



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE EXTRACTOS
DE VERDOLAGA (*Portulaca oleracea*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON
EDEMA INDUCIDO POR CARRAGENINA, EN EL BIOTERIO ESPOCH”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

LILIANA MARICELA SANTAMARÍA CÁSERES

RIOBAMBA – ECUADOR

2011

DEDICATORIA

*A Dios por ser mi soporte espiritual
A mis padres y mis hermanos por
su apoyo incondicional*

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo

Al Dr. Carlos Espinoza y al Dr. Francisco Portero por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección de la presente Tesis

A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo de investigación.

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE EXTRACTOS DE VERDOLAGA (*Portulaca oleracea*) EN RATAS (*Rattus norvegicus*) CON EDEMA INDUCIDO POR CARRAGENINA, EN EL BIOTERIO ESPOCH” de responsabilidad de la señorita egresada Liliana Maricela Santamaría Cáseres ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Yolanda Díaz DECANA FACULTAD CIENCIAS	_____	_____
Dr. Luis Guevara DIRECTOR ESC. BIOQ. Y FARMACIA	_____	_____
Dr. Carlos Espinoza DIRECTOR DE TESIS	_____	_____
Dr. Francisco Portero MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
BQF. Diego Vinuesa MIEMBRO DE TRIBUNAL	_____	_____
Lic. Carlos Rodríguez DIRECTOR CENTRO DE DOCUMENTACIÓN	_____	_____
NOTA DE TESIS ESCRITA	_____	

Yo, Liliana Maricela Santamaría Cáseres, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

LILIANA MARICELA SANTAMARÍA CÁSERES

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS	iii
ÍNDICE DE CUADROS	iv
ÍNDICE DE TABLAS	v
ÍNDICE DE GRÁFICOS	vi
ÍNDICE DE ANEXOS	viii
INTRODUCCIÓN	
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1. Verdolaga	1
1.1.1. Historia	2
1.1.2. Hábitat	2
1.1.3. Descripción y clasificación botánica	2
1.1.4. Composición química	3
1.1.5. Propiedades y aplicaciones tradicionales	4
1.1.6. Estudios clínicos	5
1.1.7. Farmacología	5
1.1.8. Acción analgésica y antiinflamatoria	7
1.1.9. Toxicología	8
1.1.10. Economía	8
1.2. Especificaciones de calidad de la materia vegetal	8
1.2.1. Cenizas totales	9
1.2.2. Determinación de humedad	9
1.2.3. Determinación de sustancias solubles	9
1.3. Extractos	9
1.3.1. Obtención de extractos	9
1.3.2. Métodos de extracción	10
1.3.3. Clasificación	11
1.3.4. Parámetros de extracción	11
1.3.5. Concentración de extractos	12
1.3.6. Control de calidad de extractos vegetales	12
1.4. Tamizaje fitoquímico	13
1.5. Sustancias activas	14
1.5.1. Mucilagos	14
1.5.2. Saponinas	15
1.5.3. Flavonoides	15
1.5.4. Alcaloides	16
1.6. Inflamación	17
1.6.1. Fiebre	19
1.6.2. Dolor	19
1.6.3. Tipos de inflamación	22
1.6.4. Mecanismos	24
1.6.5. Manifestaciones sistémicas	27
1.6.6. Reparación de la inflamación	28

1.6.7.	Eicosanoides	28
1.6.8.	AINES	30
1.7.	Carragenina	32
1.7.1.	Procedencia	32
1.7.2.	Obtención	33
1.7.3.	Caracteres	33
1.7.4.	Anatomía	33
1.7.5.	Composición química	33
1.7.6.	Extracción	34
1.8.	Experimentación en animales	34
1.8.1.	Antecedentes y actualidad	36
2.	PARTE EXPERIMENTAL	37
2.1.	Lugar de investigación	37
2.2.	Materiales, equipos y reactivos	37
2.2.1.	Material biológico	37
2.2.2.	Materia prima	38
2.2.3.	Equipos	38
2.2.4.	Material de laboratorio y otros	39
2.2.5.	Reactivos	39
2.3.	Métodos y técnicas	40
2.3.1.	Control de calidad de materia prima	40
2.3.2.	Obtención de extractos	43
2.3.3.	Tamizaje fitoquímico	44
2.3.4.	Control de calidad de extractos	49
2.3.5.	Análisis cualitativo por cromatografía en capa fina	51
2.3.6.	Prueba del edema plantar en la rata	52
2.3.7.	Modelo experimental	54
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
3.1.	Análisis químico del material vegetal	55
3.1.1.	Determinación de humedad	55
3.1.2.	Determinación de cenizas	56
3.1.3.	Determinación de sustancias solubles	56
3.2.	Tamizaje fitoquímico	57
3.3.	Control de calidad del extracto	59
3.4.	Cromatografía en capa fina	60
3.5.	Actividad antiinflamatoria de los extractos	60
3.5.1.	Resultados de la administración de los extractos	60
3.5.2.	Análisis estadístico	64
4.	CONCLUSIONES	79
5.	RECOMENDACIONES	81
6.	RESUMEN	82
7.	BIBLIOGRAFÍA	84
8.	ANEXOS	91

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

>	Mayor que
<	Menor que
%	Porcentaje
I	Inflamación
°C	Grados Celsius
W	Peso
Kg	Kilogramos
g	Gramos
L	Litro
v	Volumen
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetro
pH	Potencial de hidrógeno
AINES	Antiinflamatorios no esteroideos
t	Tiempo
h	Hora
min	Minuto
cm	Centímetros
cm ³	Centímetros cúbicos
R1	Primera repetición
R2	Segunda repetición
R3	Tercera repetición

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO No 1	Modelo experimental	54
CUADRO No 2	Parámetros de control de calidad	55
CUADRO No 3	Resultados tamizaje fitoquímico	57
CUADRO No 4	Determinación de parámetros físico-químicos de extractos	59
CUADRO No 5	Determinación de Rf de la cromatografía en capa fina	60
CUADRO No 6	Resultados de la administración de los extractos	61
CUADRO No 7	Análisis de varianza para cada tratamiento a la primera hora de administración	65
CUADRO No 8	Prueba de LSD al 95% para cada tratamiento a la primera de administración	65
CUADRO No 9	Análisis de varianza para cada tratamiento a la segunda hora de administración	66
CUADRO No 10	Prueba de LSD al 95% para cada tratamiento a la segunda hora de administración	66
CUADRO No 11	Análisis de varianza para cada tratamiento a la tercera hora de administración	67
CUADRO No 12	Prueba de LSD al 95% para cada tratamiento a la tercera hora de administración	67
CUADRO No 13	Análisis de varianza para cada tratamiento a la cuarta hora de administración	68
CUADRO No 14	Prueba de LSD al 95% para cada tratamiento a la cuarta hora de administración	69
CUADRO No 15	Análisis de varianza para cada tratamiento a la quinta hora de administración	70
CUADRO No 16	Prueba de LSD al 95% para cada tratamiento a la quinta hora de administración	70
CUADRO No 17	Análisis de varianza para cada tratamiento a la sexta hora de administración	71
CUADRO No 18	Prueba de LSD al 95% para cada tratamiento a la sexta hora de administración	72
CUADRO No 19	Análisis de varianza para cada tratamiento a la séptima hora de administración	73
CUADRO No 20	Prueba de LSD al 95% para cada tratamiento a la séptima hora de administración	73
CUADRO No 21	Análisis de varianza de los grupos tratados con respecto al tiempo(horas)	75
CUADRO No 22	Prueba de LSD al 95% de los grupos tratados con respecto al tiempo(horas)	75

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA No 1	Ensayos del tamizaje fitoquímico	14
TABLA No 2	Efectos biológicos de las prostaglandinas	29

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRAFICO No 1	Porcentajes de inflamación de cada tratamiento a la primera hora de administración	64
GRAFICO No 2	Porcentajes de inflamación de cada tratamiento a la segunda hora de administración	66
GRAFICO No 3	Porcentajes de inflamación de cada tratamiento a la tercera hora de administración	67
GRAFICO No 4	Porcentajes de inflamación de cada tratamiento a la cuarta hora de administración	68
GRAFICO No 5	Porcentajes de inflamación de cada tratamiento a la quinta hora de administración	70
GRAFICO No 6	Porcentajes de inflamación de cada tratamiento a la sexta hora de administración	71
GRAFICO No 7	Porcentajes de inflamación de cada tratamiento a la séptima hora de administración	72
GRAFICO No 8	Porcentajes de inflamación del grupo control para cada tiempo(horas)	74
GRAFICO No 9	Actividad antiinflamatoria de los grupos tratados para cada tiempo(horas)	75
GRAFICO No 10	Porcentajes de inhibición de la reacción inflamatoria en fase aguda del extracto etanólico de mayor concentración y del fármaco de referencia para cada tiempo(horas)	77
GRAFICO No 11	Actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de mayor concentración con respecto al fármaco de referencia para cada tiempo(horas)	78

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFIA No1	Proceso de obtención de extractos	96
FOTOGRAFIA No2	Determinación de alcaloides ensayo de Dragendorff	96
FOTOGRAFIA No3	Determinación de alcaloides ensayo de Wagner	97
FOTOGRAFIA No4	Determinación de alcaloides ensayo de Mayer	97
FOTOGRAFIA No5	Determinación de taninos	97
FOTOGRAFIA No6	Determinación de flavonoides	98
FOTOGRAFIA No7	Ensayo de antocianidinas	98
FOTOGRAFIA No8	Determinación de aminoácidos	98
FOTOGRAFIA No9	Determinación de catequinas	99
FOTOGRAFIA No10	Determinación de azúcares reductores	99
FOTOGRAFIA No11	Determinación de compuestos grasos	99
FOTOGRAFIA No12	Cromatografía en capa fina	100
FOTOGRAFIA No13	Formación del edema plantar en rata	100
FOTOGRAFIA No14	Administración de extractos por vía oral	100
FOTOGRAFIA No15	Acción del antiinflamatorio	101
FOTOGRAFIA No16	Actividad antiinflamatoria dosis 500mg/Kg	101
FOTOGRAFIA No17	Actividad antiinflamatoria dosis 350mg/Kg	101
FOTOGRAFIA No18	Actividad antiinflamatoria dosis 250mg/Kg	102

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO No1	Actividad biológica del extracto de verdolaga	91
ANEXO No2	Preparación de soluciones y reactivos utilizados en el tamizaje fitoquímico	91
ANEXO No 3	Mecanismos y vías del dolor	93
ANEXO No.4	Origen y efectos de las prostaglandinas	94
ANEXO No.5	Efectos adversos de los AINES	95
ANEXO No.6	Partes aéreas de la verdolaga	96
ANEXO No.7	Tamizaje fitoquímico	96
ANEXO No.8	Evaluación de la actividad antiinflamatoria	100

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han acompañado la evolución del hombre e históricamente han estado ligadas a la forma de curar ancestral, eran veneradas por las virtudes que se les había reconocido. Es por ello que forman parte de lo que ahora se conoce como medicina tradicional.

En el Perú la medicina tradicional es el resultado de lo que antiguamente los expertos dividían en medicina popular, medicina folklórica y medicina ancestral, donde se agrupa a todo un conjunto de conocimientos y de saber cuál ha sido la manera de curar y prevenir las enfermedades físicas y “del alma”, rescatándose a través de los tiempos y que cada pueblo o cultura ha sabido guardar y conservar.

Las plantas usadas por poblaciones indígenas han sido estudiadas *in vitro* para buscar actividades antifúngicas, antibacteriales, antivirales, antiinflamatorias, etc. El hecho de que una planta haya sido utilizada tradicionalmente para curar fiebre, una infección, edema o una enfermedad reumática es un indicador de que la planta debe ser analizada por sus propiedades antiinflamatorias.

Los análisis *in vivo* son utilizados para probar la actividad antiinflamatoria, el mecanismo que se plantea es la inhibición de la ciclooxigenasa y la 5-lipooxigenasa. Estas dos enzimas son las vías centrales para producir tromboxanos, prostaglandinas y leucotrienos. Varios extractos de plantas e inclusive sus componentes químicos tienen un efecto de inhibición en una u otra de estas enzimas. (6)

Se ha reportado que al menos 119 componentes derivados de 90 especies de plantas que pueden ser considerados como importantes fármacos usados en varios países, 77% de estos son derivados de la medicina tradicional. El hecho de que cerca de la mitad de las

mejores compañías farmacéuticas en 1991 hayan usado productos naturales o sus derivados resalta la importancia de estos.

Aun hay muchas plantas que requieren nuestra atención y que no han sido estudiadas por completo, y otras que se ignora por completo su actividad. Es muy importante la investigación y el desarrollo de nuevos fármacos que incluye el perfeccionamiento de modelos para el estudio de las respuestas biológicas que originan las sustancias naturales.

Debido a la tendencia actual de consumir productos naturales para aprovechar los recursos existentes, el conocimiento ancestral y la disminución de costo en la adquisición de medicamentos naturales, un nuevo campo terapéutico se abre paso en el mundo contemporáneo de la medicina: la medicina alternativa y dentro de ella la medicina verde.

Los productos naturales constituyen un importante campo de la investigación farmacológica, presentando amplias posibilidades para llegar al conocimiento de nuevas e interesantes moléculas útiles en el tratamiento de determinadas patologías.

La *Portulaca oleracea* planta herbácea anual, perteneciente a la familia de las Portulacaceas. Es uno de los vegetales de horticultura más difundidos en Europa, su origen proviene de los Himalayas y las estepas Rusas.

La etnomedicina indica su uso como emoliente, laxante, antiescorbútico, diurético, depurativo, recomendable en caso de obesidad, cistitis, cálculos urinarios, gingivitis, estomatitis, forúnculos, abscesos, reumatismo, heridas, grietas en los labios y conjuntivitis. Sin embargo, sus efectos terapéuticos no han sido probados en todos los casos.

En el presente trabajo, se analizaron los extractos obtenidos a diferentes concentraciones de las partes aéreas de la verdolaga, una planta que abunda en nuestra región andina, para evaluar su actividad antiinflamatoria, con el propósito de validar el

uso popular de esta especie nativa, debido a que la planta además de nutrientes y vitaminas, se caracteriza por contener compuestos antioxidantes como: el glutathione, ácido ascórbico y un flavonoide llamado liquiritina que son responsables en parte de las excelentes propiedades anti-inflamatorias del extracto.

El objetivo general que se planteó antes de iniciar este trabajo fue: evaluar la actividad antiinflamatoria de los extractos de verdolaga en ratas con edema inducido por carragenina.

Se planteo la hipótesis: los extractos de verdolaga presentan actividad antiinflamatoria en el edema producido por carragenina en la región plantar de la rata.

CAPÍTULO I

1 MARCO TEÓRICO

1.1. VERDOLAGA (*Portulaca oleracea*)

La verdolaga es una planta cosmopolita de hojas simples, a veces también suculenta y con brácteas y sépalos petaloides. Es una hierba anual, tendida, de tallos y hojas crasos que se comen en ensalada cuando están tiernos. Las hojas son carnosas y tienen un color variable del verde al rojo. Las flores, hermafroditas, son poco aparentes al estar casi ocultos los pétalos amarillos. (36)

Los tallos carnosos de la planta acumulan grandes cantidades de agua. Los tejidos para el almacenamiento de agua consisten habitualmente, en grandes células de paredes delgadas, en el córtex o en la médula. (28)

La verdolaga, *Portulaca oleracea*, es conocida y utilizada como remedio terapéutico desde la antigüedad. Es posible hallar referencias sobre el uso medicinal de esta planta en Plinio y en Discórides. (2)

Este último indica en su libro II que la verdolaga tiene virtud refrescante y, aplicada en cataplasma, es útil en los dolores de cabeza, inflamaciones de diversas partes del cuerpo, ardor de estómago, dolor de vejiga y varias molestias más. En uso interno, este autor asegura que serviría para afecciones digestivas, urinarias e incluso como reductor de la libido. También hace alusión a la aplicación del jugo de la planta. (2)

1.1.1. HISTORIA

En el siglo XVI, el Códice Florentino la menciona únicamente, como comestible. Francisco Hernández, en ese mismo siglo, relata: “es una planta de temperamento frío y húmedo, que aplicada a la cabeza quita el dolor que proviene del calor, cura también las llagas recientes o antiguas”. (34)

En el siglo XVII, Gregorio López, la refiere como “útil para curar el dolor de cabeza e inflamación de ojos, dolor de estómago, fuego de San Antón y dolores de vejiga y estómago. Es útil para calenturas, contra lombrices, contra la sangre que se escupe del pecho, disentería, almorranas, y mordeduras de salamanquesa. Sana las postillas de la cabeza y heridas llenas de corrupción”. (34)

A inicios del siglo XVIII, Juan de Esteyneffer lo usa para curar frenesía, dentera, aftas, campanilla caída; procurar el fortalecimiento de la sangre; curar acidias, hipo, cólera, lombrices, ”melancolía” y contra orinar sangre. Ricardo Ossado, en el Libro del Judío le asigna la curación de “el mal de piedra”, vómito de sangre y para “sacar las lombrices a los niños”. A finales del mismo siglo, Vicente Cervantes reporta: “es diluyente, atemperante y antiescorbútico”. (34)

1.1.2. HÁBITAT

La verdolaga es una herbácea cosmopolita, es decir, crecen costa, sierra y amazonia hasta los 3,000 metros de altitud. Crece silvestre y también de manera cultivada en suelos ricos en materia orgánica. Se reproduce por semillas y su siembra puede realizarse durante todo el año. (34)

1.1.3. DESCRIPCIÓN Y CLASIFICACION BOTÁNICA

Planta anual, rastrera y muy ramificada, con tallos de 5-50cm, rojizos y carnosos. Las hojas, abundantes, de pequeño tamaño de 1-2cm, son sésiles, alternas u opuestas, obovado-oblongas, de margen entero, ápice obtuso, y con estípulas setáceas en la base.

Las flores de unos 6 mm de diámetro, son de color amarillo, son sésiles y terminales, solitarias o en pequeños grupos de hasta 3. El cáliz está formado por 2 sépalos soldados, de 4mm, y la corola por 4-6 pétalos amarillos o rojizos, más largos que los sépalos. El androceo consta de 7 o más estambres y el gineceo de un ovario semiinfero a ínfero, con una cavidad, y con un estilo dividido en 2-8. El fruto es una capsula membranacea de 0.6-1 mm, que se abre transversalmente, dejando libres a numerosas semillas subreniformes, negras, brillantes y pequeñas, que dependiendo de su ornamentación permite diferenciar varias subespecies. Florece de mayo a septiembre. (2)

La planta es bastante resistente a la sequía y se adapta a casi cualquier terreno. La verdolaga es abundante en terrenos sin cultivar, veredas y terraplenes aunque puede encontrarse como maleza invadiendo terrenos cultivados. (28)

La verdolaga es originaria de la India, extendiéndose, desde México hasta Australia. En algunos sitios es cultivada exprofeso, dada su utilización como recurso alimenticio. (34)

Clasificación botánica:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Caryophyllales

Familia: Portulacaceae

Género: *Portulaca*

Especie: *oleracea*

1.1.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA

El 95 % de su peso es agua, con abundante mucilago. La *Portulaca oleracea*, contiene diversos alcaloides fenólicos, entre los que se encuentran diversas oleraceínas (oleraceínas A, B, C, D y E), que le dan propiedades antioxidantes, inferiores en potencia al ácido caféico. También se han aislado otras sustancias, como el derivado diterpenoide portuleno, lupeol, betasitosterol y daucosterol. Es posible encontrar ácido alfa-linoléico y

linoléico, hesperidina y ácido caféico. También se han identificado diversos flavonoides (kaempferol, apigenina, miricetina, quercetina y luteolina). En la parte aérea de la planta se han hallado betasitosteroles, alantoína y N,N'-d ciclohexilurea.(2)

Es posible encontrar en la planta mediadores químicos como dopamina y noradrenalina, en la proporción del 0.015% y 0.20%, respectivamente. (2)

El contenido en ácidos grasos total oscila entre 1.5 y 2.5 mg/g de masa fresca de hojas, 0.6 a 0.9 mg/g en los tallos y 80 a 170 mg/g en las semilla. El ácido alfa linoléico constituye el 60 % del contenido total en las hojas y el 40 % de los ácidos grasos de la semilla. La verdolaga contiene una cantidad apreciable de betacarotenos. (2)

1.1.5. PROPIEDADES Y APLICACIONES TRADICIONALES

Se atribuyen popularmente a esta planta propiedades emolientes y dulcificantes en irritaciones de vejiga y vías urinarias desde la antigüedad, supuestamente derivada de su contenido en mucílago. La verdolaga actúa contra la disentería, ictericia, dermatosis, diabetes, jaqueca, tuberculosis pulmonar, enfermedades del hígado, inflamación de riñones, picaduras e hinchazones. También es un efectivo refrescante, calmante, antiescorbútico, antiespasmódico, antipirético y diurético. (2) (34)

La verdolaga tiene tradición de uso tan variado como enfermedades del bazo, hígado, riñón y vejiga. Se utilizaría en estomatitis, disentería y dificultad para orinar. Una pasta hecha con las hojas se aplicaba en zonas inflamadas, erisipela, quemaduras y escaldaduras. A las semillas se atribuyen propiedades diuréticas y anti-disentéricas, aunque también se han venido aplicando localmente en casos de quemaduras. (2)

Todas las partes de la planta son utilizables, tanto en crudo como hervidas. Las dosis tradicionales populares oscilan entre 125 y 400 g en el caso de polvo de verdolaga y 1 a 20 mL en el caso de que se utilice jugo del vegetal.(2)

Basándose en la experiencia popular, recogida en Trinidad y Tobago mediante el testimonio personal de 30 pacientes de ambos sexos, existen evidencias del efecto de la verdolaga sobre problemas de tipo urinario y el exceso de colesterol. En Dominica, al oeste de la India, la verdolaga se utiliza para tratar parasitosis intestinales, junto con otras plantas. (2)

En la península arábiga se utiliza popularmente para el alivio del dolor y la inflamación. (2).

1.1.6. ESTUDIOS CLÍNICOS

En un estudio preliminar de pocos efectivos, se analizó el posible papel de la verdolaga en el tratamiento del sangrado uterino anormal, uso tradicional popular en Irán, en diez pacientes con menorragia, polimenorrea, metrorragia o sangrado intermenstrual que no habían respondido al tratamiento convencional previo y eran candidatas a la histerectomía. (2)

En ocho de las diez pacientes no recurrió la hemorragia. Estos datos son insuficientes y objetables por la escasa calidad metodológica del estudio y, para concederle validez, deberían ser contrastados con ensayos bien diseñados y rigurosos. (2)

Otro ensayo, inspirado también en usos ancestrales iraníes, comprueba el efecto broncodilatador del extracto de verdolaga en comparación con la teofilina oral y salbutamol inhalado. Respecto de aquella sustancia, los resultados son comparables, sin poderse descartar un error estadístico de tipo 2. En comparación con salbutamol, el efecto broncodilatador fue inferior. (2)

1.1.7. FARMACOLOGÍA

Extractos preparados con etanol (al 95%), acetona y agua, a partir de hojas y de tallos, mostraron actividad antibacteriana frente a numerosas especies. El jugo de las hojas también presentó actividad antibiótica frente a la especie *Mycobacterium tuberculosis*, y

extractos acuoso, metanólico y metanólico-acuoso (1:1) de las partes aéreas también resultaron activos frente a la especie *Streptococcus mutans*. Un extracto etanólico (al 95%) de la planta entera, fue eficaz frente al nemátodo *Meloidogyne* incógnita. (34)

La actividad depresora del sistema nervioso central se observó en ratones tratados, por la vía intraperitoneal, con un extracto etanólico desgrasado con éter petróleo, a la dosis de 1g/kg. (34)

Se pudo comprobar la actividad antitumoral de un extracto acuoso de la planta, en ratones tratados por la vía intraperitoneal, a la dosis de 150mg/kg, frente a tumores del tipo CA-Ehrlich-Ascites.(34)

Extractos etanólico (al 95%) y acuoso de hojas y tallos, evaluados a la dosis de 0.1 ml/kg en perros (por la vía intravenosa), produjeron actividad hipotensora, mientras que un extracto acuoso evaluado en ratas, también por la vía intravenosa, a la dosis de 1.4mg/kg evidenció actividad hipertensiva, la que fue abolida por fentolamina y reducida con propanolol.(34)

Se pudo observar un fuerte efecto estimulante del útero con extractos acuoso de hojas y acuoso y etanólico (al 95%) de hojas y tallos, evaluados todos in vitro en úteros de ratones y ratas. Estos mismos extractos mostraron actividad espasmogénica con íleon de cobayo. (34)

La planta, administrada a conejos, por la vía intragástrica, a dosis de 1.5 y 2g/kg, mostró actividad hipoglicémica. Por otra parte, un extracto preparado con semillas de esta planta, así como con otras seis plantas más, también mostró actividad hipoglicémica, en ratas machos, administradas por la vía oral a la dosis de 4g/animal.(34)

La actividad analgésica de las hojas se evidenció al evaluar un extracto etanólico (al 95%) administrado a ratones (por la vía intragástrica), a la dosis de 1g/kg. (34)

Con diferentes tipos de extractos (acuoso, metanólico, éter y acuoso dializado), preparados con las partes aéreas de la planta, se observaron actividades relajante y estimulante del músculo esquelético, evaluadas in vitro con músculos aislados de rana y rata. (34)

La actividad relajante del músculo esquelético se observó también en adulto humano, por la vía externa, con un extracto acuoso de la planta, a la dosis de 70mg/persona. También se pudo comprobar una actividad relajante del músculo liso, con extractos etanólico (al 95%) y acuoso, utilizando duodeno de conejos y yeyuno de conejo y cobayo, así como en adultos humanos por vía externa. (34)

También se comprobó la actividad vasoconstrictora de un extracto etanólico (al 95%) de hojas con tallos, que fue evaluado en órgano aislado de ratas, a la dosis de 0.033ml/L.(34)

También se observó un efecto inotrópico negativo en un extracto acuoso evaluado en conejos a la dosis de 0.55mg/mL. (34)

Extractos etanólicos de semillas, (al 95%) evaluados en ratones por la vía subcutánea a la dosis de 50mg/animal, presentaron efectos antiandrogénico y antiespermatogénico. Otras actividades evaluadas que dieron resultados negativos de actividad biológica fueron la actividad antifúngica, antiulcerosa e hipotérmica de extractos metanólicos de las partes aéreas; antifertilidad con extractos acuosos y anticonvulsivante en extracto etanólico (al 70%). (34)

1.1.8. ACCIÓN ANALGÉSICA Y ANTIINFLAMATORIA

El extracto alcohólico de las partes aéreas de la planta mostró un efecto antiinflamatorio significativo, tanto en aplicación local como intraperitoneal, pero no así en aplicación local. También ha mostrado un efecto antifúngico contra hongos tricofíticos. Tanto el jugo como el extracto de verdolaga han mostrado propiedades relajantes musculares en preparaciones aisladas nervio-músculo que, según parece, tienen relación con la

concentración del ion potasio. Así, la reducción de este elemento en el extracto de verdolaga hace disminuir considerablemente el efecto relajante de este último (2).

Por su parte, el extracto acuoso de verdolaga parece tener un efecto presor (elevador de la presión), así como un efecto relajante sobre el musculo liso de forma dosis-dependiente en diversas preparaciones experimentales. (2)

1.1.9. TOXICOLOGÍA

No se dispone de estudios toxicológicos directos sobre la verdolaga; sin embargo, una especie afín, la *Portulaca passiflora* no mostro efecto tóxico alguno sobre ratas wistar a dosis tan elevadas como 1000 mg/kg/día.(2)

Un extracto de la planta demostró ser eficaz en un modelo experimental de heridas (2).

Por otra parte, se calculó que la dosis tóxica mínima de un extracto acuoso evaluado en ratones por la vía intraperitoneal fue de 1mL/animal. También se calculó que el valor de la LD50 que fue de 1.04g/ kg. (34)

1.1.10. ECONOMÍA

Su contenido de proteínas, carbohidratos, fibras, calcio, fósforo y hierro le confieren a la verdolaga múltiples propiedades curativas que le auguran un exitoso futuro en el rubro de la medicina natural. También puede ser aprovechada con fines alimenticios. (34)

1.2. ESPECIFICACIONES DE CALIDAD DE LA MATERIA VEGETAL

Entre las especificaciones de calidad exigidas para la evaluación de materias primas vegetales con fines medicinales se encuentran:

1.2.1. DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

Se denominan cenizas totales al residuo inorgánico que se obtiene al incinerar una droga, fundamentalmente en su determinación gravimétrica. (47)

1.2.2. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Los límites de contenido de agua deben ser determinados para drogas vegetales, especialmente para aquellas que absorben fácilmente la humedad o en las cuales puede ser promovido por la presencia de exceso de agua. (47)

1.2.3. DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES

Se basa en la extracción de las sustancias solubles en agua, alcohol, o mezclas hidroalcohólicas mediante maceración y evaporación hasta sequedad de una alícuota del extracto. (47)

1.3. EXTRACTOS

1.3.1. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS A PARTIR DE PLANTAS MEDICINALES

Las condiciones de secado deben ser estudiadas debidamente pues la humedad excesiva, la incidencia de sol directo y el polvo atmosférico deterioran el material destruyendo sus propiedades medicinales, con la consecuente disminución de la calidad de la materia prima. Lo recomendable es secar el material hasta aproximadamente un 10 % de humedad. (35)

Entre los métodos de secado más utilizados encontramos: secado en estufa, secado al sol y secado a la sombra, siempre teniendo en cuenta que el secado del material vegetal se debe realizar a condiciones moderadas de temperatura. (35)

Para la reducción del tamaño del material vegetal existe una amplia variedad de equipos, se destacan los molinos de diferentes tipos como: molinos de cuchilla (corta y desgarras), molinos de martillo (rompe y fragmenta) y molinos de rodillos (machaca y tritura). (35)

Durante el almacenamiento de la materia prima vegetal, debe ser evaluada su estabilidad ya que los procesos de envejecimiento que ocurren durante estas etapas pueden degradarla considerablemente. (35)

1.3.2. MÉTODOS DE EXTRACCIÓN

La extracción sólido-líquido es una operación que está presente prácticamente en todos los procesos tecnológicos relacionados con la industria química y médico-farmacéutica; dentro de ésta, los métodos de extracción por maceración y la percolación o lixiviación son los más utilizados. (35)

1.3.2.1. Maceración

El material crudo previamente triturado se pone en contacto duradero con cantidad suficiente de solvente, en un tanque cerrado a temperatura ambiente durante 2-14 días hasta el agotamiento de la droga vegetal. Puede utilizarse agitación. Posterior a este tiempo la mezcla es filtrada, el material insoluble es lavado con el mismo solvente y los filtrados se mezclan para concentrar el extracto. (35)

1.3.2.2. Percolación o lixiviación

El material crudo previamente triturado se pone en contacto con cantidad suficiente de solvente de forma tal que el solvente cubra la capa de sólido en el tanque percolador. El solvente se renueva de modo continuo manteniéndose un gradiente de concentración, el disolvente puro desplaza al que contiene la sustancia extraída sin ser necesario aplicar presión. La droga residual es prensada y el fluido obtenido es combinado con el percolado para concentrar el extracto. (35)

1.3.3. CLASIFICACIÓN DE EXTRACTOS VEGETALES

Dependiendo del grado de concentración de los extractivos, los extractos pueden clasificarse en:

- Extractos fluidos o líquidos
- Extractos semisólidos o blandos
- Extractos secos (35).

1.3.4. PARÁMETROS DE EXTRACCIÓN

Es importante establecer los parámetros de extracción para lograr la estandarización del proceso, esto garantizará la calidad, rendimiento, seguridad y eficacia del producto medicinal, por ejemplo:

- Naturaleza química de la materia prima vegetal: conocer las características del metabolito o compuesto químico a extraer.
- Selección del solvente: definir la selectividad del solvente a emplear, el solvente óptimo será el que logre extraer un mayor rendimiento del compuesto de interés.
- Relación sólido-líquido: la proporción más conveniente de trabajo será aquella con la que se alcancen los mayores rendimientos de extracción.
- Tamaño de partícula del sólido: de la forma y dimensión de los sólidos depende en gran medida el éxito de la lixiviación, a menor tamaño de partícula, mayor superficie de contacto entre la droga y el disolvente, y por tanto, mayor acceso de los principios activos al medio líquido; no obstante, tamaños de partícula muy pequeños conducen a la formación de polvos demasiado finos, que pueden causar problemas en el proceso de extracción.
- Temperatura: el aumento de la temperatura favorece la extracción, hay que prestar especial atención cuando la sustancia de interés es termolábil o el menstruo es volátil, además, temperaturas elevadas pueden conducir a lixiviar cantidades excesivas de solutos indeseables.

- Velocidad de agitación y tiempo de extracción: los óptimos valores de estos parámetros serán aquellos que logren extraer un mayor rendimiento del producto. A mayor tiempo de contacto, mayor capacidad tendrá el disolvente para alcanzar el equilibrio de concentraciones.
- Viscosidad del medio: no deben seleccionarse solventes de viscosidad relativamente alta.

El extracto vegetal obtenido se debe caracterizar en cuanto a: sustancias activas y marcadores, densidad, solventes residuales, sólidos totales, pH, control microbiológico y volumen total (35).

1.3.5. CONCENTRACIÓN DE EXTRACTOS

Toda vez que se ha realizado la etapa de extracción y separación, se procede a eliminar parte del solvente de extracción para aumentar el contenido de sólidos en el extracto. Este proceso se realiza a presión reducida con lo que se disminuye la temperatura de calentamiento necesaria para la salida del solvente, el rotavapor es una buena alternativa para trabajos en el laboratorio y es ampliamente usado mientras que sistemas análogos se utilizan a escala industrial (evaporadores, condensadores).

También pueden utilizarse métodos de precipitación del principio activo, combinados con etapas de filtración, extracción líquido-líquido, entre otras. (35)

1.3.6. CONTROL DE CALIDAD DE EXTRACTOS VEGETALES

1.3.6.1. Determinación de la densidad relativa

Es la relación entre la masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25° C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico. (47)

1.3.6.2. Determinación del índice de refracción

Es una constante característica de cada sustancia, la cual representa la relación entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio. (47)

1.3.6.3. Determinación de pH

El pH es un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógeno. (47)

1.3.6.4. Determinación de sólidos totales

La determinación de la variación de la masa debido a la pérdida o eliminación de sustancias volátiles por acción del calor, mediante un proceso de evaporación de la porción de ensayo y secado del residuo en estufa, hasta masa constante, se le asigna como sólidos totales. (47)

1.3.6.5. Análisis capilar

Se basa en fenómenos de absorción y de repartición de sustancias en materiales colorantes a través de los espacios capilares del material inerte que constituye el papel filtro. (47)

1.4. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico a las hojas de la planta fresca o seca, se realiza según el principio de extracción de los metabolitos secundarios más importantes con solventes de polaridad creciente (éter, etanol y agua). (45)

Los ensayos que se realizan se observan a continuación:

TABLA No 1. ENSAYOS DEL TAMIZAJE FITOQUIMICO

ENSAYOS	METABOLITOS
Dragendorff	Alcaloides
Baljet	Lactonas
Borntrager	Quinonas
Liebermann Burchard	Triterpenos y esteroides
Sudán III	Aceites y grasas
Ninhidrina	Aminas
Fehling	Azúcares reductores
Cloruro férrico	Taninos y fenoles
Selivoflo	Saponinas
Shinoda	Flavonoides
Kedde	Glucósidos cardiotónicos

FUENTE: [HTTP://WWW.DFARMACIA.COM/FARMA/CTL](http://www.dfarmacia.com/farma/ctl)

1.5. SUSTANCIAS ACTIVAS

Se estudian mediante la química botánica. Existen dos tipos de sustancias, aquellas que se encuentran directamente en las plantas y que son necesarias para su subsistencia (metabolismo primario - en estado puro), y aquellas otras no necesarias para ellas (metabolismo secundario - es preciso manipularlas químicamente). En ambos casos poseen propiedades terapéuticas esenciales en fitoterapia. Se detectan hoy en día mediante observación microscópica y por manipulación química como la sublimación, cristalización, cromatografía. (31)

1.5.1. MUCÍLAGOS

Se componen en su mayor parte de polisacáridos (pentosanas y hexosanas), fermentos, productos de oxidación y elementos minerales. Al mezclarse con el agua da como resultado una sustancia viscosa de aspecto gelatinosa. Debido a esta propiedad las plantas las utilizan para depositar en ellas el agua a modo de almacén. En fitoterapia se emplean a modo de infusiones para resolver problemas del aparato respiratorio y como cataplasmas para aliviar los dolores producidos por traumatismos. (31)

1.5.2. SAPONINAS

Son glucósidos presentes en muchas plantas. Son compuestos solubles en agua, incoloros y amorfos. Se consiguen con ellas emulsiones muy espumosas y coloideas, por lo que son empleadas para la fabricación de jabones y lejías.

En fitoterapia se usan por su poder de producir un aumento en la liberación de glóbulos rojos (esto hace de ellas sustancias peligrosas, pues pueden llegar a ser tóxicas). En medicina se emplean como diuréticos, expectorantes, desinfectantes del aparato genitourinario. (31)

1.5.3. FLAVONOIDES

Los pigmentos flavonoides, son uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos de constituyentes naturales. (31)

Se conoce como diez clases de flavonoides, todos contienen quince átomos de carbonos en su núcleo básico y están arreglados bajo un sistema C₆-C₃-C₆, en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C. (31)

Las antocianinas pertenecen también a esta clase de compuestos. Cada una de las clases de flavonoides, suele encontrarse bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbonos 3 y/o 7, siendo los azúcares más comunes la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa; es frecuente que diferentes azúcares se hallen unidos a una misma aglicona y en diferentes posiciones lo que hace mayor el número de glicósidos conocidos. (31)

Los flavonoides se encuentran generalmente en mezclas como agliconas y /o glicósidos, aún de las diferentes clases siendo este último más común, en muchos casos debido a la complejidad de la mezcla es más frecuente el estudio de estos compuestos en forma de agliconas en extractos de plantas previamente hidrolizados. Se hallan presentes en todas las partes de las plantas, algunas clases se encuentran más ampliamente distribuidas que

otras, siendo más comunes las flavonas y flavonoles, y más restringidas en su ocurrencia las isoflavonas, las chalconas y auronas. (31)

Las flavonoides se emplea desde hace mucho tiempo como colorantes de lana, y actualmente se usan en la conservación de grasas o jugos de frutas debido a las propiedades antioxidantes de algunas polihidroxi flavonas. Entre otras aplicaciones mencionaremos la de los glucósidos de dihidrochalconas como edulcorante, de la rotenona como insecticida, etc. (31)

La acción farmacológica es también extensa y variada, son bien conocidas sus actividades como la fragilidad capilar, dilatadores de las coronarias, espasmolítica, antihepatotóxica, colerética, estrógena y diurética. Destacaremos así mismo la actividad antimicrobiana de flavonoides prenilados y otros fenoles y la acción fungitóxica de la isoflavonas. (31)

Los flavonoides son además antiinflamatorios, lo cual es compatible con lo que es conocida de sus interacciones en el metabolismo del ácido araquidónico y puede ser antialérgico y disminuir el colesterol en la sangre. (31)

1.5.4. ALCALOIDES

Los alcaloides constituyen el grupo más grande de metabolitos secundarios de plantas. Se encuentran en las semillas, raíces, cortezas y hojas; al estado libre o como glicósidos, o formando sales con ácidos orgánicos. Al año 1970 se reportaba alrededor de 5000 alcaloides aislados de aproximadamente 40 familias de plantas, principalmente de *Apocinaceae*, *Papaveraceae*, *Ranunculaceae*, *Solanaceae*, *Rutaceae* y *Rubiaceae*; en el año 1990 se reporta alrededor de 7,000. (31)

Aunque no hay una definición exacta pero el término alcaloide, en él se incluyen aquellas sustancias básicas que contienen uno o más átomos de nitrógeno como parte de un sistema cíclico, que manifiesta significativa actividad farmacológica y han sido biosintetizados de aminoácidos como precursores; compuestos que llenan estas

características, se dice que son verdaderos alcaloides, para diferenciarlos de aminoácidos, y de pseudoalcaloides, aquellos que también poseen nitrógeno en un ciclo, pero no son originados por aminoácidos, por ejemplo: los derivados de purina y los esteroalcaloides.(31)

La función de los alcaloides en las plantas es aún no muy conocida, como ocurre con la mayoría de los productos naturales, aunque se reporta que algunos intervienen como reguladores el 80% de las plantas no contienen alcaloides hace suponer que estos no son vitales para los organismos vivientes. Sin embargo, por años es conocida la acción farmacológica de muchos de ellos. (31)

1.6. INFLAMACIÓN

Cuando se produce una rotura de la piel o de las mucosas, los microorganismos pueden pasar del medio externo al interno. Como reacción y en un intento de localizar al agente invasor, se produce una reacción en el tejido conectivo vascularizado que se denomina inflamación. Este complejo proceso produce el acúmulo de fluidos y leucocitos en el espacio extravascular. (33)

Constituye uno de los procesos más comunes en la enfermedad, es una reacción elemental frente a una agresión al organismo y es necesaria para la supervivencia, pero en muchas ocasiones dicha reacción puede ser excesiva y es capaz de producir daño, por lo que es necesario frenar el proceso inflamatorio, lo que puede lograrse mediante los fármacos antiinflamatorios.(1)

Desde el punto de vista clínico, la inflamación se divide en dos fases: aguda y crónica. La primera comprende la reacción inmediata y temprana frente a un agente agresor, se caracteriza por su corta duración, horas o días. En cambio, la segunda es secundaria a estímulos persistentes durante semanas o meses. (1)

Celso, un autor romano del siglo I después de Cristo, describió los cuatro signos cardinales de la inflamación: rubor (coloración roja), tumor (hinchazón), calor y dolor. (1)(33)

Sir Thomas Lewis, basándose en simples experimentos sobre la respuesta inflamatoria en la piel, estableció el concepto de que las sustancias químicas liberadas en forma local tras la agresión, son las que influyen en los cambios vasculares de la inflamación. Este concepto fundamental subyace al importante descubrimiento de los mediadores químicos de la inflamación y de potentes agentes antiinflamatorios. (1)

Los principales mediadores químicos de la inflamación incluyen eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclina, leucotrienos), citocinas, aminas vasoactivas (histamina, serotonina), radicales libres de oxígeno, factor activador de plaquetas y productos de leucocitos. (1)

Las causas comunes de la inflamación son agentes infecciosos, bacterias, virus, parásitos y sus toxinas, factores inmunológicos (reacciones de hipersensibilidad), además de agentes irritantes, sobre todo sustancias químicas (corrosivos), isquemia y lesiones térmicas o físicas (quemaduras). (1)(33)

Ante la presencia de daño tisular y como consecuencia de la lesión celular, los fosfolípidos de membrana son liberados, y elevan la producción de dos hormonas locales, bradicinina y adrenalina que, a su vez, aumentan el ácido araquidónico que, por medio de la enzima ciclooxigenasa(COX), produce tres sustancias capaces de producir inflamación: prostaglandinas, tromboxanos y leucotrienos. (1)

Aunque en algunos casos, como la hipersensibilidad, la inflamación puede tener consecuencias nocivas, por lo general es una respuesta protectora que trata de restaurar los tejidos lesionados. Tras un proceso inflamatorio puede ocurrir lo siguiente:

1. Resolución con retorno a una estructura y función normales
2. Supuración con formación de absceso

3. Hinchazón con regeneración de tejido especializado o fibroso formando una cicatriz y
4. Persistencia del agente causante, haciéndose el proceso crónico.

La respuesta inflamatoria está formada por plasma, células circulantes, vasos sanguíneos y constituyentes celulares y extracelulares del tejido conectivo. Entre las células circulantes se incluyen los neutrófilos, monocitos, eosinófilos, linfocitos, basófilos y plaquetas. (33)

1.6.1. FIEBRE

Se define como la elevación de la temperatura, controlada por el hipotálamo, por arriba de lo normal. En los humanos la temperatura normal oscila entre 36 y 37.8°C. La temperatura corporal es controlada por las neuronas del centro de termorregulación localizado en los núcleos preóptico y anterior del hipotálamo. Las neuronas termosensibles tienen conexiones con los termorreceptores que se encuentran en la piel y músculos. El control de la temperatura por el hipotálamo se efectúa de manera directa a través de las vías nerviosas eferentes, de modo que cuando la temperatura ambiental es inferior a la corporal se produce vasoconstricción resultando en conservación de calor, además de contracción muscular y escalofrío para producir calor, todo esto es con el fin de mantener la temperatura normal. Por el contrario, cuando existen en el ambiente temperaturas superiores a la corporal, ocurre vasodilatación periférica con el propósito de liberar calor. (1)(32)

1.6.2. DOLOR

1.6.2.1. Definición

El dolor es una sensación desagradable causada por una estimulación de carácter nocivo de las terminaciones nerviosas sensoriales. Es un síntoma cardinal de la inflamación. Las terminaciones nerviosas libres que constituyen la mayor parte de los receptores del dolor se localizan de forma fundamental en la epidermis y en la cubierta epitelial de ciertas membranas mucosas. (1)

También se presenta en el epitelio escamoso estratificado de la cornea, en las cubiertas de la raíces y papilas de los pelos, y alrededor de los cuerpos de las glándulas sudoríferas. Las terminaciones de los receptores del dolor constan de fibras nerviosas desmineralizadas que suelen anastomosarse en pequeñas protuberancias entre las células epiteliales. (1)

Estos receptores son activados de manera directa por sustancias liberadas en respuesta a una lesión mecánica local (inflamación, isquemia y necrosis tisulares) y lesiones térmicas o por radiaciones nocivas. Estas sustancias incluyen los iones de H^+ y K^+ , histamina, serotonina, bradicinina, sustancia P, prostaglandinas y leucotrienos. (1)

Se ha definido que el dolor es una experiencia sensorial y emocional desagradable; asociada a daño de tejidos real o potencial, que se describe en función de ese daño; el dolor siempre es subjetivo, cada individuo aprende el significado de esta palabra a través de experiencias relacionadas con lesiones durante las etapas iniciales de la vida. Se trata de una vivencia sensorial, lo cual significa que el paciente puede identificar el momento del inicio de la sensación dolorosa, su localización, intensidad y duración. Como experiencia desagradable genera cambios en el estado de ánimo. Una persona con dolor suele estar angustiada, temerosa, irritable, deprimida. El dolor es diferente de otras sensaciones; su propósito es informar al cerebro de un estímulo que está produciendo daño a tejidos. (10)

1.6.2.2. Mecanismos y vías

El dolor es resultado de una serie de eventos muy complejos e involucra una vía aferente y otra eferente, ambas con varios relevos sinápticos en los que intervienen diversos mediadores químicos. Se inicia con la estimulación de los receptores periféricos que transmiten los impulsos por vías que llegan al cerebro y culmina con alteraciones cognitivas, emocionales, autonómicas y neuromusculares, cuya gravedad y duración varían ampliamente con el individuo. (10)(32)

Los receptores de las fibras nerviosas mielinizadas ($A\delta$) son activados por estímulos intensos o nocivos. Por esta vía, la información se conduce rápidamente a las zonas centrales, lo que permite la localización inmediata y precisa del sitio afectado, y la activación de los reflejos defensivos. Los receptores de las fibras no-mielinizadas (C) pueden ser activados por estímulos químicos, mecánicos y térmicos, pero son particularmente sensibles a mediadores químicos, entre ellos serotonina y bradicinina, que se liberan en el sitio de la lesión tisular. En esta vía, la conducción es relativamente más lenta y se produce una sensación de dolor difuso, mal localizado. (10)(32)

La activación de nociceptores $A\delta$ genera potenciales de acción que viajan por fibras nerviosas que hacen sinapsis con las células del asta dorsal de la médula espinal. El axón de esta segunda neurona cruza al lado opuesto de la médula espinal y forma el haz espinotalámico que se proyecta en el tálamo somatosensorial, donde hace sinapsis, corteza somatosensorial primaria y cíngulo. Los potenciales de acción de las fibras C viajan a través del haz espinoreticulotalámico y las colaterales de este sistema se conectan con la formación reticular y activan las vías relacionadas con la sensación desagradable del dolor. (10)(32)

El dolor agudo es producto de la nocicepción, es decir, de un estímulo nocivo excesivo que desencadena una sensación intensa y desagradable. En contraste, el dolor crónico (presente después del dolor agudo que produce una lesión tisular) se asocia con alteraciones de la vía fisiológica del dolor y da lugar a un estado de hiperalgesia (cuando un estímulo nocivo moderado genera dolor intenso) y alodinia, que implica que se presenta dolor con un estímulo no-nocivo. Además de los mediadores químicos antes indicados, en este proceso participan otros productos como acetilcolina, histamina, prostaglandinas, ácido láctico, ATP, ADP, iones de potasio y taquicinas, como la sustancia P5 que también se liberan en el sitio de la lesión tisular. (10)(32)

El procesamiento central del estímulo doloroso es muy complejo. No existe un centro del dolor y las dimensiones cognitivas, afectivas, motoras y vegetativas del dolor dependen de varios componentes del sistema nervioso central. Un hecho importante; es

que el sistema nervioso central puede modular el dolor; es decir, qué dispone de mecanismos capaces de filtrar, seleccionar y modelar el paso de la información de las fibras aferentes hacia el tálamo por medio de las neuronas localizadas en el asta dorsal de la médula espinal. El sistema supresor del dolor, o sistema endógeno de analgesia, está constituido por tres elementos básicos: sistema gris periacueductal, núcleo magno del rafe, y asta dorsal de la médula espinal. En este sistema participan varios mediadores químicos, destacan la 5-HT y las endorfinas; de hecho, se postula como sitio de acción principal de los analgésicos opioides. (10)(32)

Finalmente, conviene reiterar que las vías aferentes y eferentes disponen de numerosos mediadores químicos y que ello representa sitios de acción posible para las sustancias químicas que alivian el dolor. (10)(32)

La sensación de dolor puede ser modificada de la siguiente manera:

- Eliminación de la causa del dolor
- La reducción de la sensibilidad de nociceptores (analgésicos antipiréticos, anestésicos locales)
- Interrupción de la conducción en los nervios sensoriales nociceptivos (anestésicos locales)
- Supresión de la transmisión de los impulsos nociceptivos en la médula espinal (opioides).
- La inhibición de la percepción del dolor (opioides, anestésicos generales).
- La alteración de las respuestas emocionales al dolor, es decir, el comportamiento del dolor. (antidepresivos como “co-analgésicos”). (32)

1.6.3. TIPOS DE INFLAMACIÓN

La inflamación según su duración se divide en aguda y crónica. La aguda es de duración relativamente corta (minutos, horas o unos pocos días), se inicia muy rápidamente y se caracteriza por el exudado de fluidos plasmáticos y la migración de leucocitos predominantemente neutrófilos. La inflamación crónica dura semanas,

meses o incluso años y se caracteriza histológicamente por el infiltrado de linfocitos y macrófagos con la proliferación de vasos sanguíneos y tejido conectivo. (33)

1.6.3.1. Inflamación aguda

Los cambios que se producen tras la lesión tisular se deben a tres procesos:

1. Cambios en el flujo y calibre vascular, que hacen que aumente el flujo sanguíneo.
2. Cambios estructurales en los vasos sanguíneos que aumentan la permeabilidad vascular e inducen la formación de exudado inflamatorio.
3. Paso de los leucocitos del espacio vascular al extravascular alcanzando así el foco de las lesiones.

El resultado de todo ello es el acúmulo de un fluido rico en proteínas, fibrina y leucocitos. En los primeros 10-15 minutos se produce una hiperhemia por dilatación de arteriolas y vénulas y apertura de los vasos de pequeño calibre. Tras esta fase aumenta la viscosidad de la sangre, lo que reduce la velocidad del flujo sanguíneo. Al disminuir la presión hidrostática en los capilares, la presión osmótica del plasma aumenta, y en consecuencia un líquido rico en proteínas sale de los vasos sanguíneos originando el exudado inflamatorio. (33).

1.6.3.2. Inflamación crónica

Si la inflamación dura semanas o meses se considera crónica, y tiene dos características importantes:

1. El infiltrado celular está compuesto sobre todo por macrófagos, linfocitos y células plasmáticas.
2. La reacción inflamatoria es más productiva que exudativa, es decir, que la formación de tejido fibroso prevalece sobre el exudado de líquidos.

La inflamación crónica puede producirse por diversas causas: a) progresión de una inflamación aguda; b) episodios recurrentes de inflamación aguda y c) inflamación crónica desde el comienzo asociada frecuentemente a infecciones intracelulares (tuberculosis, lepra, etc.).(33)

Microscópicamente la inflamación crónica se caracteriza por la presencia de macrófagos y sus derivados (células epitelioides y gigantes), linfocitos, células plasmáticas, neutrófilos, eosinófilos y fibroblastos. (33).

1.6.3.3. Inflamación crónica granulomatosa

Algunas formas de inflamación crónica tienen una histología peculiar que consiste en el acúmulo de macrófagos modificados llamados epitelioides formando unos agregados nodulares llamados granulomas. Las células epitelioides reciben ese nombre porque se asemejan a células epiteliales. (33)

Tienen un núcleo vesicular y abundante citoplasma eosinófilo y segregan el enzima convertidor de angiotensina (Kininasa II), la fosfatasa ácida y mucopolisacáridos. Además, los macrófagos pueden fusionarse por efecto del IFN-g y formar células gigantes que contienen hasta 100 núcleos. (33)

1.6.4. MECANISMOS QUE INTERVIENEN EN LA INFLAMACIÓN

1.6.4.1. Migración leucocitaria

Inicialmente, en la inflamación aguda se acumulan predominantemente los leucocitos neutrófilos polimorfonucleares y en las fases tardías, los monocitos y macrófagos. Hay tres fases para el reclutamiento de las células en la región dañada, es decir, la extravasación o salida de las células desde la luz del vaso al espacio intersticial. (11)
(33)

Normalmente las células ocupan la parte central del torrente sanguíneo teniendo muy poco contacto con el endotelio. Al aumentar la permeabilidad vascular, el flujo sanguíneo se enlentece, lo que permite a los leucocitos acercarse al endotelio vascular. Este proceso se denomina marginación y se debe a los cambios hemodinámicos producidos en la inflamación. (33)

Los leucocitos escapan del torrente circulatorio mediante un movimiento ameboide activo. Cuando los leucocitos entran en contacto con la célula endotelial, proyectan pseudópodos y migran por la superficie hasta que detectan una unión celular inter-endotelial. Durante su paso desde la luz vascular al tejido extravascular, el leucocito rompe las uniones inter-endoteliales y la membrana basal probablemente a través de la secreción de colagenasa. (33)

El tipo de leucocito que migra depende mucho del tiempo que dura la inflamación y del tipo de estímulo. En la mayoría de los casos, en la inflamación aguda los neutrófilos son las células predominantes durante las primeras 24 horas. Estas células empiezan a acumularse en los primeros minutos tras la lesión, mientras que los monocitos y macrófagos se acumulan más tarde, tras 24 horas. Después de la extravasación, los leucocitos migran en los tejidos a los lugares donde se ha producido la lesión mediante el proceso de quimiotaxis. (33)

1.6.4.2. Células que intervienen en la inflamación

En la inflamación intervienen multitud de células pero entre ellas destacan los granulocitos neutrófilos y los fagocitos mononucleares. La vida de los neutrófilos es muy corta, sólo de 3 a 4 días. Algunos de los productos de los gránulos son bactericidas, mientras que otros son capaces de degradar la matriz proteica extracelular. Muchos de los neutrófilos mueren en los lugares de inflamación liberando los enzimas que pueden dañar las células o las proteínas de la matriz extracelular. (33)

Los fagocitos mononucleares se diferencian en prácticamente todos los tejidos del organismo de distinta manera según el tejido que ocupan, dando lugar a macrófagos.

Los macrófagos son realmente monocitos llegados a los tejidos. Son células extremadamente flexibles y su propiedad más obvia es la fagocitosis. Son muy móviles y su movilidad está influenciada por varias sustancias endógenas como las linfocinas y las prostaglandinas. Los macrófagos tienen una producción autocrina de factores de crecimiento tales como el GM-CSF o el M-CSF que hacen que proliferen localmente en los tejidos. Para llevar a cabo sus funciones, los macrófagos necesitan ser activados por el IFN-g. (33) (39)

1.6.4.3. Moléculas que intervienen en la inflamación

Además de las células directamente implicadas en la inflamación, como son los neutrófilos, macrófagos y linfocitos, los basófilos, mastocitos, plaquetas y células endoteliales también produce mediadores químicos. Hay dos tipos, los mediadores tisulares y los mediadores plasmáticos de la inflamación. (33)

1.6.4.4. Mediadores tisulares de la inflamación

La activación de los mastocitos, basófilos y plaquetas estimula el metabolismo del ácido araquidónico con la consiguiente síntesis de prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos. (33)

La histamina y la serotonina, segregadas por mastocitos, basófilos y plaquetas, producen vasodilatación y aumentan la permeabilidad vascular. El PAF es un complejo lisofosfolípido-acetilado que induce la agregación plaquetaria y la degranulación. Además, aumenta la permeabilidad vascular, induce la adhesión leucocitaria y estimula la síntesis de derivados del ácido araquidónico. Estos derivados incluyen las prostaglandinas y los leucotrienos. (33)

El ácido araquidónico es un ácido graso derivado del ácido linoleico que se encuentra en la membrana celular y bajo estimulación puede ser liberado al exterior de la célula por una fosfolipasa.(33)

El óxido nítrico se produce por las células endoteliales, macrófagos y neuronas del cerebro. (33)

1.6.4.5. Mediadores plasmáticos de la inflamación

El factor XII de la coagulación (Factor Hageman) se activa por superficies extrañas cargadas negativamente, tales como la membrana basal, enzimas proteolíticos o lipopolisacáridos. Una vez activado, el factor XII puede activar el sistema de la coagulación, el de la fibrinólisis y el de las kininas-kallicreína. (33)

1.6.5. MANIFESTACIONES SISTÉMICAS DE LA INFLAMACIÓN

Las manifestaciones sistémicas se conocen de forma colectiva como respuesta de la fase aguda. Al llegar un agente que produzca una lesión hay un ajuste rápido en la composición de las proteínas plasmáticas y la concentración de algunas aumenta, mientras que la de otras disminuye. Una de las que aumenta es la proteína C reactiva, que funciona como opsonina de bacterias, la α -2-macroglobulina y otras antiproteinasas, el fibrinógeno del sistema de la coagulación y el amiloide sérico A, cuya función se desconoce. La albúmina y la transferrina disminuyen. La mayoría de estos cambios se producen por alteraciones en la síntesis de estas proteínas por los hepatocitos. (33)

La inflamación produce fiebre a través de pirógenos externos (endotoxina generalmente) que estimulan la producción de pirógenos endógenos como la IL1 (Interleucina 1) o el TNF (factor de necrosis tumoral). Estas citocinas actúan sobre el hipotálamo anterior, donde se encuentra el termostato central del organismo e inducen la producción de PGE2 que hace aumentar la temperatura corporal. Además, en la sangre periférica se puede observar una leucocitosis, es decir, un aumento del número de leucocitos (dos o tres veces). (33)(39)

Este aumento se debe sobre todo a los neutrófilos, entre los que aparecen algunas formas inmaduras (cayados). (33)

1.6.6. REPARACIÓN DE LA INFLAMACIÓN

En la inflamación se produce una destrucción de las células del parénquima y de las del estroma. El tejido lesionado se repara mediante tejido conectivo que va a producir la fibrosis y la escarificación. (33)

En este proceso intervienen los componentes siguientes:

1. Formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis)
2. Migración y proliferación de fibroblastos
3. Depósito de matriz extracelular
4. Maduración y organización del tejido fibroso (remodelación).

El proceso de reparación empieza a las 24 horas tras la lesión. Los fibroblastos y las células del endotelio vascular comienzan a proliferar formando el tejido de granulación en el cual se forman nuevos vasos (angiogénesis).

1.6.7. EICOSANOIDES

1.6.7.1. Origen y metabolismo

Los eicosanoides, prostaglandinas, tromboxanos, prostaciclina y leucotrienos, se forman en el organismo a partir del ácido araquidónico, un ácido graso, un ácido eicosatetraenoico. El ácido araquidónico es un componente regular de fosfolípidos de la membrana celular, es liberado por la fosfolipasa A2 y forma el sustrato de las ciclooxigenasas y lipoxigenasas. (32)

La síntesis de prostaglandinas (PG), prostaciclina, tromboxanos y procede a través de intermediarios endoperóxidos cíclicos. En el caso de los PG, se forma un anillo de ciclopentano en la cadena de acilo. Las siguientes letras PG (D, E, F, C, H, o I) indican diferencias en la sustitución de grupos hidroxilo o ceto, el número de subíndices se refieren al número de enlaces dobles, y la letra griega designa la posición del grupo

hidroxilo en C9, PG son principalmente inactivadas por la enzima 15-hidroxi prostaglandin dihidrogenasa. (32)

La inactivación del plasma es muy rápida, durante un paso por el pulmón, el 90% de las PG que circulan en el plasma se degradan, PG son mediadores locales que alcanzan concentraciones biológicamente efectivas sólo en su sitio de formación. (32)

1.6.7.2. Efectos biológicos

TABLA No 2. EFECTOS BIOLÓGICOS DE LAS PROSTAGLANDINAS

Función fisiológica	Prostaglandina(s) implicada(s)
Relajación del músculo liso vascular	PGE ₂ , PGF _{2α} , PGI ₂
Promotora de la agregación plaquetaria	TXA ₂
Inhibición de la agregación plaquetaria	PGI ₂
Relajación del músculo liso bronquial	PGE ₂ , PGI ₂
Contracción del músculo liso bronquial	PGF _{2α}
Incremento del flujo renal	PGE ₂ , PGI ₂
Protección de la mucosa gástrica	PGE ₂ , PGI ₂
Contracción de la musculatura lisa uterina	PGE ₂ , PGF _{2α}
Relajación de la musculatura lisa uterina	PGI ₂

FUENTE: WWW.MONOGRAFIAS.COM/TRABAJOS65/AINES/AINES2.SHTML

Las PG individuales poseen diferentes efectos biológicos:

- Nociceptores. Las PG aumentan la sensibilidad de las fibras nerviosas sensoriales a estímulos de dolor común.
- Termoregulación. Las PG elevan el punto de ajuste de neuronas termorreguladoras del hipotálamo (preóptico), se incrementa la temperatura corporal (fiebre).
- Músculo vascular liso. La PGE₂ y la PGI₂ producen vasodilatación arteriolar; la PGF_{2α} produce vasoconstricción.
- La secreción gástrica. Las PG promueven la producción de mucosa gástrica y reducen la formación de ácido gástrico.
- La menstruación. La PGF_{2α} se cree que es responsable para la necrosis isquémica del endometrio previa a la menstruación.
- Músculo uterino. Las PG estimulan la labor de contracciones.
- Músculo bronquial. La PGE₂ y la PGI₂ inducen broncodilatación; la PGF_{2α}, causa constricción.

- El flujo sanguíneo renal. Cuando el flujo renal es más bajo, las PG vasodilatadoras son liberadas ese acto devuelve el flujo sanguíneo.
- Los tromboxanos A₂ y prostaciclina juegan un papel en la regulación de la agregación plaquetaria y el diámetro vascular.
- Los leucotrienos incrementan la permeabilidad capilar y sirven como factores quimiotácticos para los granulocitos neutrófilos.
- Aplicaciones terapéuticas. Los derivados de las PG son usados para inducir la labor o interrupción de la gestación, en la terapia de la úlcera péptica, y en las enfermedades arteriales periféricas. (32)

1.6.8. ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS (AINES)

A estos fármacos, se les considera, de manera convencional, como analgésicos periféricos. Su sitio de acción principal es donde se genera el estímulo doloroso y sus propiedades farmacológicas dependen de su capacidad para inhibir la enzima ciclooxigenasa (COX) y, en consecuencia, la síntesis de prostaglandinas y tromboxanos. Las prostaglandinas, producto del daño tisular (inflamación), sensibilizan los receptores del dolor a la estimulación mecánica y a la estimulación química de numerosos productos endógenos con propiedades algésicas (sustancia P, serotonina, bradicinina, histamina). La inhibición de su síntesis impide este efecto sensibilizante y, en consecuencia, la sensación de dolor. (10)

Uno de los descubrimientos más importantes relacionados con el dolor, inflamación y fiebre fue el de dos isoformas diferentes de ciclooxigenasa (COX), la ciclooxigenasa I (COX-I) y la ciclooxigenasa 2 (COX-2). (1)

Se acepta que la COX-I tiene una función homeostática (como el mantenimiento de la protección gástrica y del flujo renal), mientras que la COX-2 es inducida durante la inflamación y tiende a facilitar la respuesta inflamatoria. (1)(10)

Los analgésicos antiinflamatorios se dividen en dos subgrupos: los inhibidores no selectivos que inhiben tanto al COX-I como al COX-2 (ácido acetilsalicílico, naproxeno,

indometacina, ibuprofeno, etodolac, piroxicam) y los inhibidores selectivos COX-2 (celecoxib). (1)(10)

Los AINES son muy efectivos para aliviar el dolor de baja a moderada intensidad. Son eficaces en el dolor de origen periférico ligado a un proceso inflamatorio. Su eficacia analgésica es menor que la observada con los opioides, pero no inducen depresión respiratoria ni dependencia física. (10).

El ácido acetilsalicílico ha sido y continúa siendo el prototipo terapéutico de este grupo, y fármaco de elección cuando no está contraindicado. Su uso principal es en el control del dolor leve o moderado que acompaña a los padecimientos neuromusculares, cefalea, dolor menstrual y otras condiciones autolimitadas, incluido el dolor posoperatorio. Los AINES de introducción más reciente son, en general, más potentes (sólo implica el empleo de dosis menores) que el ácido acetilsalicílico pero no son clínicamente más eficaces. Su única ventaja sobre el ácido acetilsalicílico es la duración más prolongada de su efecto, lo que disminuye la frecuencia de administración; en algunos casos también se observa una relativa menor incidencia de efectos gastrointestinales. Sin embargo, algunos de ellos tienen efectos tóxicos más peligrosos y todos son considerablemente más caros. (10)

Los AINES se absorben con rapidez en el estómago y en porción superior del intestino delgado, lo que origina una concentración plasmática máxima en 1 a 2 h. En general, su unión a las proteínas plasmáticas es moderada y su distribución es amplia. Se metabolizan principalmente en el hígado y el fármaco original y sus metabolitos se eliminan en la orina. La alcalinización de la orina aumenta su eliminación. (10)

Los AINES tienen en común varios efectos indeseables. Las reacciones adversas más frecuentes, especialmente cuando se administran de manera crónica o en dosis altas, son irritación de la mucosa gastrointestinal, propensión a ulceraciones gástricas e intestinales, y sangrado gastrointestinal. Ocasionalmente es posible presentar hemorragia masiva. Éste es un riesgo alto en los bebedores crónicos y en los pacientes con antecedentes de enfermedad gástrica. (10)

El daño tisular producido por dichos fármacos se debe a una acción irritante local y a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas, ya que estos productos endógenos tienen la función de inhibir la secreción ácida gástrica en el estómago y promover la secreción de moco citoprotector en el intestino. (10)

Otros efectos colaterales que dependen de la inhibición de la síntesis de prostaglandinas incluyen: inhibición de la agregación plaquetaria, inhibición de la motilidad uterina y, en consecuencia, prolongación de la gestación y del trabajo de parto, y cambios en la función renal mediada por prostaglandinas. Además, estimulan la retención de sodio y agua al disminuir la inhibición de la resorción de cloruro inducida por prostaglandinas y la acción de la hormona antidiurética; por ello puede causar edema. (10)

1.7. CARRAGENINA

Coloide extraído de la carragina, una alga roja cartilaginosa, *Chondrus crispus*; se usa principalmente como un agente emulsificante y estabilizante de los alimentos, los cosméticos y los productos farmacéuticos. (22)

Debido a su capacidad de inducir inflamación intensa y sus signos clínicos característicos (tumor, rubor, dolor y calor) de manera dosis dependiente, cuando se inyecta en los tejidos, se utiliza como una importante herramienta farmacológica para estudiar el efecto antiinflamatorio y analgésico de los medicamentos de tipo analgésicos antiinflamatorios no esteroideos.(22)

1.7.1. PROCEDENCIA

Es el talo de las algas del tamaño de la mano o más, que se hallan en las costas peñascosas de todo el oeste de Europa y de la costa oriental de América del Norte, así como en las de todo el Océano Atlántico del Norte. (23)

1.7.2. OBTENCIÓN

La recolección de la droga se efectúa principalmente en las costas del norte de Irlanda, y en menor escala en América del Norte (Masachusetts). A veces las tempestades la arrancan de las rocas a que esta agarrada por medio de asideros discoides y la arrojan en grandes masas a la playa. (23)

1.7.3. CARACTERES

Las algas frescas, arrojadas a la playa por las olas o sacadas del agua, son de color rojo violáceo o rojo verdoso y su consistencia es carnosogelatinosa. Lavadas con agua dulce y desecadas al sol toman color amarillo pálido, se vuelven translúcidas y adquieren consistencia cartilaginosa-cornea. En la droga del comercio generalmente predomina el *Chondrus crispus*: su talo es aplanado y muchas veces bifurcado formando lóbulos estrechos. En ocasiones existen sobre el mismo “frutitos” (cistocarpos), en forma de verrugas semiesféricas y aplanadas, pero siempre en una sola cara del talo y siempre en la misma. (23)

1.7.4. ANATOMÍA

Todo el talo está formado por hebras fuertemente enlazadas entre sí de células parenquimáticas. En la capa cortical las células son más pequeñas y en el centro mayores. En contacto con el agua las paredes de las células se hinchan mucho. (23)

1.7.5. COMPOSICIÓN QUÍMICA

La carragenina tiene un marcado olor de “agua de mar”. El componente principal de la droga, que a lo mas debe dar 16% de cenizas y que contiene unos 6% de materias proteicas, es mucílago (hasta 80%), al cual debe su aplicación en medicina . A causa del mucilago que contiene, cuando se pone la carragenina en 30 veces su peso de agua, se ablanda y se vuelve viscoso, y por ebullición da una jalea insípida que, por enfriamiento, queda bastante consistente. Esta jalea no toma color azul con la solución de yodo, porque

la carragenina no contiene fécula. La droga descolorada con ácido sulfuroso no debe emplearse. Mojándola con agua en la proporción 1:5 y filtrando la solución, el líquido no debe enrojecer al papel azul de tornasol; calentando en baño maría 5g de carragenina, que se han dejado hinchar con 30cm³ de agua, en un frasco bastante grande, con 5g de ácido fosfórico, no debe desprenderse anhídrido sulfuroso, cuya presencia se reconoce por el color azul que adquiere una tira de papel impregnada de engrudo de almidón con yodato potásico, introducida en el frasco, de modo que quede expuesta a la acción de los vapores que se desprendan al calentarlo.(23)

1.7.6. EXTRACCIÓN

El proceso de extracción de la carragenina para su producción industrial se basa en dos de las propiedades de dicha alga: su solubilidad en agua caliente y su insolubilidad en solventes orgánicos polares. (23)

Después de un proceso de lavado, triturado y filtrado, se obtiene un jarabe transparente que contiene carragenina en solución. Este líquido se somete a otro proceso que finaliza con una obtención de un fino polvo o granulado, insípido e inodoro, de color blanco a beige. (23)

En los productos comerciales, se diluyen frecuentemente estos polvos con azúcares para fines de normalización, y se mezclan con sal de uso alimenticio para conseguir características de gelificación y espesamiento. (23)

1.8. EXPERIMENTACIÓN EN ANIMALES

Los animales de experimentación constituyen factores clave en el desarrollo científico en general y biomédico en particular, tanto en los proyectos de investigación como en las pruebas diagnósticas y en los controles de productos farmacológicos. Una evidencia de lo anterior es que los países que han logrado un gran avance en el control de las enfermedades humanas y animales son aquellos que han dedicado recursos y tiempo al desarrollo de la Ciencia de los Animales de Laboratorio. Para lograr un rendimiento

idóneo y garantizar resultados consistentes, se debe tener en cuenta los requerimientos de manejo, alimentación, factores ambientales y de confort de las especies utilizadas a partir del conocimiento y aplicación de los principios bioéticos. (20)

La Ciencia de Animales de Laboratorio surge como ayuda a la comunidad científica para mejorar todos los aspectos concernientes a la experimentación animal. Ya a partir del año 1959, los científicos ingleses W. M. Russell y R. L. Burch escribían en sus Principios de Técnicas de Experimentación Humanitarias que la excelencia científica y el uso humanitario de los animales de laboratorio estaban fuertemente ligados. En dicho tratado describieron por primera vez el hoy conocido lema de las tres «R» en el uso de animales de experimentación: **reducción, refinamiento y reemplazo**. (20)

La búsqueda de métodos alternativos que reemplacen los animales en la experimentación es una responsabilidad y debería ser una inquietud de todos los investigadores, el refinamiento de los experimentos y la reducción en el número de animales utilizados son aspectos fundamentales que conciernen a esta nueva rama de las ciencias biológicas.(20)

El refinamiento involucra, fundamentalmente, la normalización según parámetros internacionales, la definición genética y del estado microbiológico de los animales utilizados (animales definidos) y la calidad del ambiente donde son criados, antes y durante la experimentación. Los progresos en el refinamiento de los experimentos llevarán, por sí solos, a la reducción en el número de animales utilizados. (20)

Según refiere Barassi y col (1996), un análisis de estos aspectos en la literatura científica a puesto en evidencia un uso ineficiente de animales debido al pobre diseño experimental, al inapropiado análisis estadístico de los resultados, o a ambas causas. (20)

Cabe destacar que el número de animales utilizados debe ser el mínimo necesario para poder evaluar la hipótesis y dar resultados estadísticamente útiles. Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto podemos definir que la Ciencia de Animales de Laboratorio se ocupa, simultáneamente, de mejorar la investigación científica y de asegurar el bienestar animal. (20)

1.8.1. ANTECEDENTES Y ACTUALIDAD

La preocupación por el bienestar de los animales en general, y el de los animales utilizados en investigación y docencia en particular, surgió de parte de la sociedad civil y no de parte de los investigadores. Ya desde 1875 existía preocupación por no cometer abusos ni actos de crueldad con los animales, es así que en ese año el Parlamento Británico publicó "Cruelty Animal Act", documento que regula la realización de experimentos que podrían ocasionar dolor a los animales vertebrados. (20)

Pero los preceptos bioéticos de bienestar animal no solo tienen una sustentación moral, desde el punto de vista técnico, es necesario el cuidado adecuado de la salud y el bienestar de los animales de experimentación debido a que cualquier deficiencia en su cuidado puede modificar o disminuir las respuestas del animal lo que llevaría a resultados experimentales inadecuados y con poco valor científico. Se requiere también de la estandarización, la cual es consecuencia de la genética del animal y su relación con el ambiente, así como el determinar la calidad para el uso. Estos dos últimos requerimientos son necesarios para que el experimento pueda ser replicado en cualquier lugar del mundo. Es necesario, además, para la mayor parte de las investigaciones, que se disponga de una población lo más homogénea posible en sus características. Esta reflexión requiere de cambios de actitudes por parte de los investigadores. (20)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en Laboratorio de Farmacología y en el Bioterio pertenecientes a la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1. MATERIAL BIOLÓGICO

En la experimentación se usaron ratas wistar albinas de laboratorio.

A continuación se exponen las características del reactivo biológico de la colonia del Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia:

Reino: Animalia

Filo: Chordata

Clase: Mammalia

Orden: Rodentia

Suborden: Myomorpha

Familia: Muridae

Género: *Rattus*

Especie: *norvegicus*

2.2.1.1. Descripción

Nomenclatura: Cr1:(WI) BR

Peso promedio: 175-250 +/- 20g

Edad: 75-80 días de nacidas

Sexo: machos y hembras

Lugar de nacimiento: Bioterio de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Facultad de Ciencias de la ESPOCH.

2.2.1.2. Condiciones

Humedad relativa: 55% \pm 10

Temperatura: 22°C \pm 2

Periodos de luz-oscuridad: 12 horas ^c/_u

2.2.2. MATERIA PRIMA

Como materia prima se utilizaron las partes aéreas frescas de la verdolaga (*Portulaca oleracea*). La materia prima fue recolectada en la provincia de Tungurahua, Ciudad Ambato, Parroquia Picaihua.

El material vegetal se adquirió en la época de verano, en estado de maduración y sin floración, se utilizaron las hojas, tallos y semillas.

2.2.3. EQUIPOS

- Balanza analítica (ADAM)
- Estufa (Memmert)
- Mufla
- Rotavapor
- pH-metro
- Refrigeradora

2.2.4. MATERIALES DE LABORATORIO Y OTROS

- Balones aforados de 10, 25,50 y 100mL
- Balones esmerilados de 500mL
- Vasos de precipitación de 100 y 250mL
- Probetas de 25 y 50ml
- Pipetas de 10mL
- Matraz erlenmeyer 500mL
- Cápsulas de porcelana
- Crisol
- Piseta
- Embudos
- Trípodes
- Espátulas
- Papel filtro
- Varilla de vidrio
- Placa de vidrio (3cm x 10cm)
- Papel aluminio
- Jeringuillas de 1, 3 y 5mL(NYPRO)
- Cánulas
- Envases estériles de vidrio de 100mL
- Cinta métrica

2.2.5. REACTIVOS

- Indometacina 25mg
- Carragenina
- Agua destilada
- Alcohol potable
- Éter dietílico
- Éter anhidro
- Acido acético

- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Mayer
- Cloroformo
- Acido sulfúrico
- Acido clorhídrico
- Hidróxido de sodio
- Hidróxido de potasio
- Amonio 5% agua
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Sudan III
- Solución de carbonato de calcio
- Cloruro férrico
- Cloruro de sodio
- Ninhidrina 5%
- Magnesio metálico
- Alcohol amílico
- Reactivo de Fehling
- Sílica gel 60F254 (Merck)
- Metanol
- Acetato de etilo

2.3.MÉTODOS Y TECNICAS

2.3.1. CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA

a) Determinación de humedad

Se pesa 2g de muestra en una cápsula de porcelana previamente tarada. Se coloca en una estufa a $103^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por un lapso de 2 a 3 horas.

Se enfría en el desecador hasta temperatura ambiente y se pesa.

Fórmula:

$$SS\% = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} * 100$$

Donde:

SS=sustancia seca en porcentaje de masa

m=masa de la cápsula en g

m₁=masa de la cápsula con la muestra en g

m₂=masa de la cápsula con la muestra después del calentamiento en g.

$$\% \text{Humedad} = 100 - \% \text{SS}$$

b) Determinación de cenizas totales

Se coloca la cápsula con la muestra seca resultado de la determinación del contenido de humedad en un mechero y en la sorbona, para calcinar hasta ausencia de humos. Luego se transfiere la capsula en la mufla y se incinero a 500°C-550°C, hasta obtener cenizas libres de residuo carbonoso.

Se seca la cápsula y se coloca en desecador, se enfría y se pesa.

Fórmula:

$$\% C = \frac{m_1 - m}{m_2 - m} * 100$$

Donde:

%C=contenido de cenizas en porcentaje de masa

m=masa de la cápsula vacía en g

m₁=masa de la cápsula con la muestra antes de la incineración en g

m₂=masa de la cápsula con las cenizas después de la incineración en g.

c) Determinación de cenizas solubles en agua

A las cenizas totales se añade de 15 a 20 mL de agua. La cápsula se tapa y se pone a hervir suavemente directo a la llama del quemador durante 5 minutos. La solución se filtra a través de papel filtro libre de cenizas determinadas o declaradas. El papel del filtro con el residuo se transfiere a la cápsula inicial, se carboniza en un quemador y luego se incinera en un horno mufla a 500-550 °C durante 2 horas. Posteriormente se enfría en el desecador hasta temperatura ambiente y se pesa.

Cálculos:

$$\%C = \frac{m_2 - m_4}{m_1 - m} * 100$$

Donde:

%C= porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada

m1= masa de la capsula con la muestra de ensayo (g)

m= masa de la capsula vacía (g)

m2= masa de la capsula con las cenizas (g)

m4= masa de la capsula con las cenizas insolubles en agua (g)

d) Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico

A las cenizas totales se añade de 15 a 20mL de acido clorhídrico al 10%. La cápsula se tapa y se pone a hervir suavemente 5 minutos. La solución se filtra a través de papel filtro libre de cenizas, con cenizas determinadas o declaradas, se lava el residuo con agua caliente hasta que al añadirle al filtrado acidulado con acido nítrico: 1 o 2 gotas de nitrato de plata 0.1 Molar, no muestre la presencia de cloruros. El papel filtro con el residuo se transfiere a la cápsula inicial, se carboniza en un quemador y luego se incinera en un horno mufla a 500-550°C durante 3 horas. Posteriormente se enfría en el desecador hasta temperatura ambiente y se pesa.

Cálculos:

$$\%C = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} * 100$$

Donde:

%C= Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada

m1= masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

m= masa de la cápsula vacía (g)

m2= masa de la cápsula con las cenizas ácido clorhídrico (g).

2.3.2. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Extracto etanólico. 100g de planta seca y molida se coloca en un matraz erlenmeyer de 500mL y se deja macerar con suficiente cantidad de etanol para cubrir completamente la planta. Después se filtra (papel filtro No. 4) y en un rotavapor se lleva el extracto a casi seco a 47°C y a presión reducida. El extracto se coloca en un vial bien cerrado, en el refrigerador.

Extracto etéreo. 100g de planta seca y molida se coloca en un matraz erlenmeyer de 500mL y se deja macerar con suficiente cantidad de éter dietílico para cubrir completamente la planta. Después se filtra (papel filtro No. 4) y en un rotavapor se lleva el extracto a casi seco a 47°C y a presión reducida. El extracto se coloca en un vial bien cerrado, en el refrigerador.

Extracto acuoso. 100g de planta seca y molida se coloca en un matraz erlenmeyer de 500mL y se deja macerar con suficiente cantidad de agua para cubrir completamente la planta. Después se filtra (papel filtro No. 4) y en un rotavapor se lleva el extracto a casi seco a 47°C y a presión reducida. El extracto se coloca en un vial bien cerrado, en el refrigerador.

Extracto fluido. A 100 g de planta se añade 200 mL de alcohol al 95% para humectar a la planta por el tiempo mínimo de 40 min, se mezcla y se mueve continuamente. Se coloca algodón al fondo del percolador y se pone la planta humectada. Posteriormente se coloca la cantidad necesaria de alcohol al 95% hasta que cubra la planta. Se cubre con papel filtro y se tapa el percolador con papel aluminio. Se deja reposar al menos 16 horas. Luego se obtiene el percolador 100 mL del extracto (velocidad de 40 gotas/min) y se guarda un frasco ámbar .Se guarda en el congelador para estabilizar

2.3.3. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

ENSAYO DE DRAGENDORFF

Utilizado para detectar la presencia de alcaloides se debe tomar en cuenta si el extracto está disuelto en solvente orgánico este debe evaporarse en baño de agua y residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si se trata de un extracto acuoso a la alícuota se le añade una gota de ácido clorhídrico concentrado (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez).

Para el ensayo a la solución acuosa ácida se le añade 3 gotas del reactivo de Dragendorff y se observa:

- a) Opalescencia: (+)
- b) Turbidez definida: (++)
- c) Precipitado: (+++)

ENSAYO DE WAGNER

Se parte de la solución ácida de igual forma que en los casos anteriores. A esta solución se le adiciona 2 ó 3 gotas del reactivo de Wagner y se reporta los resultados de igual forma que la reacción anterior.

ENSAYO DE MAYER

Se parte de la solución ácida de igual forma que en los casos anteriores. A esta solución se le adiciona 2 o 3 gotas del reactivo de Mayer y se reporta los resultados de igual forma que en la reacción anterior.

ENSAYO DE LIEBERMAN-BUCHARD

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides en ambos tipos de productos debe poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6.

Para ello si la alícuota no se encuentra en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

- d) Rosado-azul muy rápido
- e) Verde intenso-visible aunque rápido
- f) Verde oscuro-negro-final de la reacción.

El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos. Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

La reacción de Liebermann-Buchard es también utilizada para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso mientras que para las segundas se observa rojo rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas, y esteroides saturados que puedan estar presentes.

ENSAYO DE BORNTRAGER

Es útil para detectar la presencia de quinonas. Si la alícuota no está en cloroformo debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación.

El ensayo es positivo cuando la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado, en este caso se reporta (++) o rojo para lo cual se reporta (+++).

ENSAYO DE BALJET

Es útil para reconocer la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar resultado positivo. Si la alícuota de la muestra a probar no está en alcohol debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en 1 mL de alcohol. Seguidamente se añade 1 mL de reactivo. La prueba es positiva cuando aparece una coloración o precipitado de color rojo (++ y +++) respectivamente.

ENSAYO DE SUDAN III

Permite conocer en un extracto la presencia de compuestos grasos para ello, cuando un extracto etéreo se evapora a sequedad en presencia de una solución de Sudán III al 0.6% en glicerina-agua (1:1).

La aparición de gotas oleosas de color rojo-oscuro, indica la presencia de lípidos y/o aceites esenciales.

ENSAYO DE CATEQUINAS

Para ello, tomar de la solución alcohólica obtenida, una gota con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel filtro. Sobre la mancha aplique solución de Carbonato de Sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV indica positiva la prueba.

ENSAYO DE RESINAS

Para detectar este tipo de compuesto adicione a 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado indica un ensayo positivo.

ENSAYO DE ESPUMA

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.

ENSAYO DEL CLORURO FÉRRICO

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se añade 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9% en agua). Si el extracto es acuoso el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota de extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- g) Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- h) Desarrollo de una coloración verde-intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- i) Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalónicos.

ENSAYO DE NINHIDRINA

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general. A la fracción disuelta en 1 mL de etanol se le adiciona 1 mL de solución de Ninhidrina al 5%. Se calienta en baño de agua de 5 a 10 minutos. Si aparece una coloración azul o violeta el ensayo es positivo.

ENSAYO DE SHINODA

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos se añade 1 mL de alcohol amílico se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen.

Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se produce de igual forma a partir de la adición del HCl concentrado.

El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja carmelita o rojo; intensos en todos los casos.

ENSAYO DE ANTOCIANIDINAS

Permite conocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Se calienta 2 mL del extracto etanólico por 10 minutos con 1 mL de HCl concentrado. Dejar enfriar y luego adicionar 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Agitar y dejar separar las 2 fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica indica ensayo positivo.

ENSAYO DE FEHLING

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 mL de agua. Se adicionan 2mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo.

2.3.4. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO

a) DETERMINACIÓN DE REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS

- Determinación de olor
- Determinación de color
- Determinación de sabor(dulce, amargo, picante)

b) DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA

Pesar el picnómetro vacío y seco a 2°C y llénese la porción de ensayo, manténgalo a temperatura de 25°C durante 15 min, secar el exceso.

Se pesa cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con el agua destilada a 25 °C.

La densidad relativa a 25°C se calcula por la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Donde:

M1: peso del picnómetro con la muestra

M2: peso del picnómetro el agua

M: peso del picnómetro vacío

c) DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Se coloca sobre el prisma de medición una gota de agua destilada, utilizando para ello una varilla de vidrio que no tenga cantos agudos, se ajusta el equipo seleccionado la zona del espectro visible que aparece en la línea límite del campo visual, moviendo al compensador cromático y colocando la intersección del retículo sobre la línea límite de los campos claro y oscuro.

Después de haber realizado el ajuste del refractómetro, se coloca una gota de la muestra de ensayo sobre el prisma de medición, se cierra el termo del prisma y se enfoca la luz por medio del espejo, de modo que la misma incida sobre la apertura de entrada del prisma de medición y se proceda de la misma forma que con el agua.

d) DETERMINACIÓN DEL PH

Ajuste el equipo con la solución reguladora de pH adecuada al rango en que se realizara la determinación. Posteriormente determínese el valor de pH de la muestra.

e) DETERMINACIÓN DE LOS SÓLIDOS TOTALES

5mL del producto se lleva a una cápsula previamente tarada a 105°C, se evapora sobre baño de agua hasta que el residuo este aparentemente seco. Se pesa entonces hacia una estufa y se deja hasta peso constante (aproximadamente 3h). Se retira la cápsula de la estufa y se coloca en una desecadora hasta que alcance la temperatura ambiente.

Para obtener la masa constante entre una pesada y otra se mantendrá un tiempo de secado de 60 min.

La expresión de los resultados. La cantidad de sólidos totales, expresado en % R, se calcula por la siguiente fórmula.

$$ST = \frac{PR - P}{V} * 100$$

Donde:

Pr: masa de la cápsula mas el residuo

P: masa de la cápsula vacía

V: volumen de la porción de ensayo

100: factor matemático para el cálculo.

2.3.5. ANÁLISIS CUALITATIVO POR CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Pesar 1g de muestra seca y pulverizada en un erlenmeyer de 50 mL, añadir 5mL de metanol y calentar por 10 minutos a 60°C. Filtrar sobre un vial (extracto A)

Utilizar una placa cromatográfica de sílica gel 60F254 (Merck) de 10 cm x 3 cm. Aplicar 30 µL del extracto A a 1cm del borde inferior. La fase móvil es acetato de etilo: metanol: agua (100: 13.5: 10). Dejar saturar la cámara cromatográfica (diámetro: 8cm, altura: 11cm).

Colocar la placa cromatográfica en la cámara y dejar hasta que la fase móvil se mueva aproximadamente 8 cm del origen.

Se puede también ensayar con el sistema acetato de etilo: ácido acético: ácido fórmico: agua (100:11:11:26).

La placa desarrollada se seca con aire caliente (puede utilizar un reverbero) y se visualiza en la lámpara de onda larga (366 nm) y/o se revela con una solución de ácido sulfúrico-vainillina, de no contarse con esta solución, el revelado de las placas podría ser hecho con una solución etanólica de cloruro férrico.

Observar las fluorescencias coloreadas nuevamente a la luz UV 366 nm después del aspersionado. Determinar el valor de Rf de cada componente.

2.3.6. PRUEBA DE EDEMA PLANTAR EN RATA INDUCIDO POR CARRAGENINA

El método de edema plantar inducido por carragenina consiste en la administración subcutánea de una solución de carragenina a nivel de la aponeurosis plantar de la rata, provocando una reacción de carácter inflamatorio mediada por la liberación de diversos autacoides (histamina, serotonina, bradicinina, prostaglandinas) además diversos factores del complemento que están implicados en la amplificación de la respuesta. El producto a ensayar se puede administrar vía intraperitoneal, oral, etc.

Una hora después de la administración de la sustancia problema, la histamina y la serotonina tienen un papel principal como mediadores. De una hora y media a dos y media horas después de la inyección de carragenina, intervienen las cininas como mediadores. La última fase esta mediada por prostaglandinas (PGE1 y PGE2, PGF2).

La respuesta vascular máxima ocurre aproximadamente a las 4 horas de la administración de carragenina y coincide con la fase mediada por las prostaglandinas. La extravasación de proteínas ocurre durante toda la respuesta al agente edematogeno. La migración celular, fundamentalmente leucocitos polimorfonucleares, comienza a las 2 horas de haberse inyectado el agente.

Es muy importante la estandarización del ensayo: hora, temperatura, etc. Se prefiere la carragenina ante otros irritantes porque el edema producido esta menos modificado por factores ajenos a los propiamente característicos de la inflamación y además, porque la actividad anti-inflamatoria de este ensayo guarda una buena correlación con la actividad anti-inflamatoria en clínica.

Se utilizaron lotes de 3 ratas por cada concentración. Se midieron los volúmenes normales de la pata derecha posterior de las ratas con una cinta métrica. Los extractos a ensayar se administraron por vía oral a diferentes dosis empleando jeringas con aguja adaptada para ser usadas como sonda orogástrica. El vehículo utilizado fue agua

destilada. El grupo control recibió solamente el vehículo y otro grupo una dosis del agente antiinflamatorio indometacina (25mg/Kg).

Media hora después de la administración del extracto, se indujo el edema inyectando 0.1mL de una disolución acuosa al 1% de carragenina en la aponeurosis plantar derecha de las ratas. La medida del volumen de la pata derecha inflamada se realizó con una cinta métrica (largo y diámetro). La inflamación se cuantificó midiendo el volumen de las patas a las 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 horas después de la inyección de carragenina. La diferencia de volumen entre la pata derecha inflamada y la misma pata derecha normal antes de la inyección de carragenina es indicativa del grado de inflamación.

Se calculó el volumen de inflamación producido, con la siguiente fórmula:

$$Volumen = \pi/4d^2h$$

Donde:

d= diámetro de la pata

h= largo de la pata

Los resultados se determinaron como porcentaje de inflamación utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inflamación} = \frac{V_t - V_o}{V_o} \times 100$$

Donde:

V_t=volumen de la pata inflamada a un tiempo x

V_o=volumen normal (antes de la aplicación de carragenina).

Nota: Las ratas se encontraban en un estado de salud óptimo y en ayuno de 12 horas.

2.3.7. MODELO EXPERIMENTAL

En el cuadro siguiente se muestra el esquema de ensayo utilizado para evaluar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de la verdolaga. Se observa cada hora el volumen de la inflamación en la región plantar de la rata.

CUADRO 1. MODELO EXPERIMENTAL

TRATAMIENTOS	REPETICIONES		
T1	R1	R2	R3
T2	R1	R2	R3
T3	R1	R2	R3
T4	R1	R2	R3
T5	R1	R2	R3

Donde:

T1=Control carragenina 1%

T2=Referencia indometacina 25mg/Kg

T3=Dosis equivalente de planta contenida en el extracto: 250mg/Kg

T4= Dosis equivalente de planta contenida en el extracto: 350mg/Kg

T5= Dosis equivalente de planta contenida en el extracto: 500mg/Kg

Se emplean 15 animales de experimentación por cada ronda de administración. Es decir:

TOTAL: $5 \times 3 = 15$

Aplicando el principio de las 3R (reducción, refinamiento y reemplazo), se utilizan 15 animales de experimentación para la primera ronda de administración y se realizaran 3 repeticiones para verificar la reproducibilidad y se valide la investigación. En total se necesitan como máximo 45 animales de experimentación.

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. ANÁLISIS QUÍMICO DEL MATERIAL VEGETAL

Para este análisis se recolectó el material vegetal en la provincia de Tungurahua, cantón Ambato, parroquia Picaihua.

Se realizó una comprobación taxonómica e identificación macro-morfológica del material vegetal. Se tomó en cuenta el color, descartándose aquellas partes deterioradas de la planta. Una vez separadas las mismas, se lavó la planta con abundante agua potable para luego desinfectarla usando hipoclorito de sodio al 5%. Se realizó los análisis que se muestran el siguiente cuadro:

CUADRO 2 PARÁMETROS DE CONTROL DE CALIDAD

PARÁMETRO	%
Determinación de humedad	84.54
Determinación de cenizas totales	4.92
Determinación de sustancias solubles	0.99
Determinación de sustancias insolubles	2.26

3.1.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

Se observó que esta planta contiene abundante agua (84.54%), por tal razón el proceso de secado fue muy cuidadoso para que no se degraden los principios activos. Se recomienda el secado en la estufa a una temperatura de $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ ya que puede controlarse el proceso.

Se obtuvo una humedad residual de 4.82%, ya que para una buena conservación esta debe ser inferior al 10%, de esta forma se evita los procesos enzimáticos, y para expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca.

3.1.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Para esta determinación se utilizó el material vegetal secado a la estufa.

En relación con las cenizas totales, como promedio de las dos replicas se obtuvo un valor de 4.92%, con dependencia de dicho valor, al parecer estas no están constituidas mayoritariamente por componentes inorgánicos en la droga (metales pesados), aspecto que se justifica con el valor obtenido para las cenizas insolubles en ácido.

Muchas plantas medicinales de uso tradicional, tienen un valor de cenizas entre 3-5 %, por lo que en nuestro caso, los valores encontrados pueden considerarse dentro de los límites establecidos. Si dicho valor sobrepasara el 12% la droga deberá ser rechazada ya que es probable que se exista contaminación de la misma.

En este caso, los valores según reportes son muy variados e incluso pueden tener una gran variabilidad en el propio material vegetal en diversas épocas del año.

3.1.3. DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES

La diferenciación entre las cenizas solubles en agua respecto a las totales nos da una idea del contenido en materia mineral de la planta.

El valor de cenizas solubles en agua respecto a las cenizas totales como promedio de las dos réplicas fue de 0.99%, lo que indica un bajo contenido de sustancias minerales y complementa favorablemente el valor obtenido de cenizas totales. Este valor se encuentra entre los índices establecidos, que deben estar por debajo de un 2 % para plantas medicinales.

3.2.TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Mediante el tamizaje fitoquímico se realizó los siguientes ensayos químicos para la identificación de metabolitos como alcaloides, flavonoides, mucilagos, resinas, azúcares reductores, taninos, cumarinas, catequinas, saponinas, aminoácidos, entre otros. Como se puede apreciar en el siguiente cuadro de resultados.

CUADRO 3 RESULTADOS TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Metabolitos	Ensayo	Extracto acuoso	Extracto etanolico	Extracto etereo
Alcaloides	Dragendorff	(+)	(++)	(+)
	Wagner	(+)	(+)	
	Mayer	(+)	(+)	
Triterpenos	Lieberman-Buchard	(-)	(-)	
Quinonas	Borntrager	(-)	(-)	
Cumarinas	Baljet	(-)	(-)	
Compuestos grasos	Sudan III	(+)	(+)	(++)
Catequinas	Catequinas	(+)	(+++)	
Resinas	Resinas	(-)	(-)	
Saponinas	Espuma	(+++)	(++)	
Taninos	Cloruro ferrico	(+++)	(++)	
Aminoácidos	Ninhidrina	(+++)	(+++)	
Flavonoides	Shinoda	(-)	(+++)	
Azúcares reductores	Fehling	(-)	(+++)	
Mucílagos	Mucílagos	(+++)	(-)	
Antocianidinas	Estructuras C6-C3-C6		(+)	

Donde:

(+) Significa que se obtuvo una baja intensidad de la reacción

(++) Significa que se obtuvo una intensidad moderada de la reacción

(+++) Significa que se obtuvo una intensidad de alta de la reacción

(-) Significa que se obtuvo una respuesta negativa para ese metabolito en el extracto.

Los espacios en blanco significan que esos ensayos no se le realizaron al extracto.

Para el tamizaje fitoquímico, las extracciones llevadas a cabo siguieron el orden de polaridad ascendente para la muestra; así que se utilizaron tres solventes: éter dietético, etanol y agua; de menor a mayor polaridad respectivamente. Estos solventes modifican el pH del medio con el fin de obtener los metabolitos secundarios de acuerdo a su solubilidad.

En la identificación de los metabolitos secundarios se realizaron a cada extracto aquellos ensayos específicos para los metabolitos que de acuerdo a su solubilidad podían haber sido extraídos en cada solvente.

El éter dietílico, al ponerse en contacto con la droga, va a extraer los principios activos de polaridad semejante (lipofílicos). El etanol, como solvente de polaridad intermedia, extrae los constituyentes afines. El agua extrae los principios activos más hidrosolubles, debido a su elevada polaridad.

Se obtuvieron respuestas positivas para una gran diversidad de grupos funcionales de compuestos entre los que se destacaron los siguientes:

- Alcaloides
- Compuestos grasos
- Catequinas
- Saponinas
- Taninos
- Aminoácidos
- Flavonoides
- Azúcares reductores
- Antocianidinas
- Mucílagos

Estos metabolitos se encontraron fundamentalmente en el extracto alcohólico, lo que justifica el por qué el extracto fluido de esta planta se obtiene con etanol al 95 % y es el empleado en otros estudios realizados con la misma.

El etanol, por ser un solvente de polaridad intermedia, extrae los constituyentes afines y es donde se solubilizan mayores porcentajes de sustancias activas como los flavonoides.

La literatura pertinente indica que los flavonoides constituyen uno de los grupos de compuestos a los cuales se les atribuye actividad antiinflamatoria; en concordancia con lo anterior fueron los extractos etanólicos de la planta los que evidenciaron mayor contenido de flavonoides.

3.3.CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO

En el siguiente cuadro se pueden apreciar los resultados en cuanto a las propiedades físico-químicas del extracto fluido, preparados a partir de la *Portulaca oleracea*.

CUADRO 4. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE EXTRACTOS

PARAMETRO	RESULTADO
Requisitos organolépticos	Olor característico Sabor ligeramente amargo Color café, transparente
Densidad relativa	0.957g/mL
Índice de refracción	1.358
pH	5.79
Sólidos totales	1.27%
Análisis capilar	Si

Se analizaron las propiedades organolépticas en el extracto alcohólico de la *Portulaca oleracea*, dio como resultado que presentaban un olor característico y sabor ligeramente amargo, lo que indica la presencia de principios amargos o astringentes.

La densidad relativa fue baja y correspondió a 0.957g/mL, está dentro de los parámetros normales.

El índice de refracción fue de 1.358, por lo tanto está entre los valores normales para la planta en estudio, que van desde 1.350 hasta 1.400.

El pH obtenido fue de 5.79 por lo tanto el extracto tiende hacia la acidez y está dentro de los valores referenciales de esta especie que van desde 4-9.

El contenido de sólidos totales correspondió al 1.27%, por lo tanto esta dentro de los límites establecidos $\leq 5.0\%$.

En el análisis capilar a través del papel filtro se observó una imagen vivamente coloreada, con una altura de 8.4cm. En el análisis de la imagen fue posible distinguir una franja festoneada, una sub-franja color amarillo, una banda pigmentada de color café claro, los vapores de amoniaco fueron positivos esto revela cambios por alcalinidad. La franja fue traslucida, por lo tanto, la planta en estudio denotó la presencia de ácidos grasos y en la banda se observó la presencia de sustancias coloreadas.

3.4.CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

CUADRO 5. DETERMINACIÓN DE Rf CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

Manchas observadas	Cálculos Rf
1	$Rf = 3.1/7 = 0.44$
2	$Rf = 3.4/7 = 0.48$

Al analizar el recorrido de las manchas se puede apreciar que hubo una buena separación de los productos, obteniéndose dos manchas definidas, de coloración que varía del morado al café. Se identificó el flavonoide quercetina.

3.5.ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS EXTRACTOS

3.5.1. RESULTADOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS

En este estudio se analizaron los extractos etanólicos a diferentes concentraciones de las partes aéreas de la verdolaga, para comprobar su actividad antiinflamatoria y en que grado presentaban dicha actividad, los extractos se probaron en ratas albinas a las que se les indujo la formación de un edema plantar utilizando carragenina. Como se mencionó los extractos fueron inoculados vía oral, usando una cánula que depositó el extracto directamente en el estómago de la rata.

Se utilizó indometacina como droga control, ya que provoca una reducción del edema inducido por carragenina.

Se realizaron las respectivas mediciones del edema plantar de la rata, para esto se tomó en cuenta tanto el largo como el diámetro de la pata, con estos datos se aplicó la

respectiva fórmula para el cálculo del volumen descrita en la metodología, esto se lo efectuó cada hora, desde las 0 horas hasta las 7 horas.

Una vez calculado el volumen de cada medición se realizó un promedio de las tres réplicas, los resultados obtenidos se muestran en el siguiente cuadro:

CUADRO No. 6 RESULTADOS DE LA ADMINISTRACIÓN DE LOS EXTRACTOS

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 0 HORAS				
Tratamiento	R₁	R₂	R₃	\bar{X}
	(cm³)	(cm³)	(cm³)	Volumen (cm³)
T₁	24.74	24.74	28.14	25.87
T₂	34.5	34.5	24.74	31.24
T₃	28.14	26.54	29.75	28.14
T₄	33.35	32.50	29.75	31.86
T₅	36.56	32.69	35.60	34.95

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 1 HORA				
Tratamiento	R₁	R₂	R₃	\bar{X}
	(cm³)	(cm³)	(cm³)	Volumen (cm³)
T₁	24.74	38.48	33.67	32.29
T₂	37.52	39.69	26.42	34.54
T₃	30.86	31.75	35.62	32.74
T₄	33.35	34.50	33.59	33.81
T₅	36.56	32.69	35.60	34.95

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 2 HORAS

Tratamiento	R₁ (cm³)	R₂ (cm³)	R₃ (cm³)	\bar{X} Volumen (cm³)
T₁	33.67	45.36	41.93	40.32
T₂	41.93	44.23	33.67	39.94
T₃	33.67	34.60	37.63	35.3
T₄	38.67	44.23	35.59	39.49
T₅	38.68	34.64	36.56	36.62

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 3 HORAS

Tratamiento	R₁ (cm³)	R₂ (cm³)	R₃ (cm³)	\bar{X} Volumen (cm³)
T₁	50.26	55.42	50.26	51.98
T₂	45.36	46.59	39.78	43.91
T₃	41.81	41.81	40.61	41.41
T₄	46.58	50.26	39.69	45.51
T₅	41.93	38.70	41.96	40.86

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 4 HORAS

Tratamiento	R₁ (cm³)	R₂ (cm³)	R₃ (cm³)	\bar{X} Volumen (cm³)
T₁	58.18	56.41	50.26	54.95
T₂	45.36	50.26	40.71	45.44
T₃	43.98	46.20	47.52	45.9
T₄	50.16	48.85	47.75	48.92
T₅	43.09	44.23	48.84	45.38

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 5 HORAS

Tratamiento	R₁ (cm³)	R₂ (cm³)	R₃ (cm³)	\bar{X} Volumen (cm³)
T₁	58.18	58.09	51.26	55.84
T₂	47.78	50.26	39.78	45.94
T₃	43.98	46.20	51.26	47.14
T₄	50.26	51.48	43.09	48.27
T₅	47.59	50.16	50.16	49.30

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 6 HORAS

Tratamiento	R₁ (cm³)	R₂ (cm³)	R₃ (cm³)	\bar{X} Volumen (cm³)
T₁	58.18	56.41	51.26	55.28
T₂	47.78	45.39	38.68	43.95
T₃	46.20	48.3	51.26	48.58
T₄	51.48	50.16	50.16	50.6
T₅	47.75	48.95	51.48	49.39

TIEMPO DE ADMINISTRACIÓN 7 HORAS

Tratamiento	R₁ (cm³)	R₂ (cm³)	R₃ (cm³)	\bar{X} Volumen (cm³)
T₁	58.18	58.09	51.26	55.84
T₂	47.75	45.39	38.68	43.94
T₃	46.20	48.49	51.26	48.65
T₄	54.03	51.48	46.49	50.66
T₅	46.49	49.87	51.26	49.20

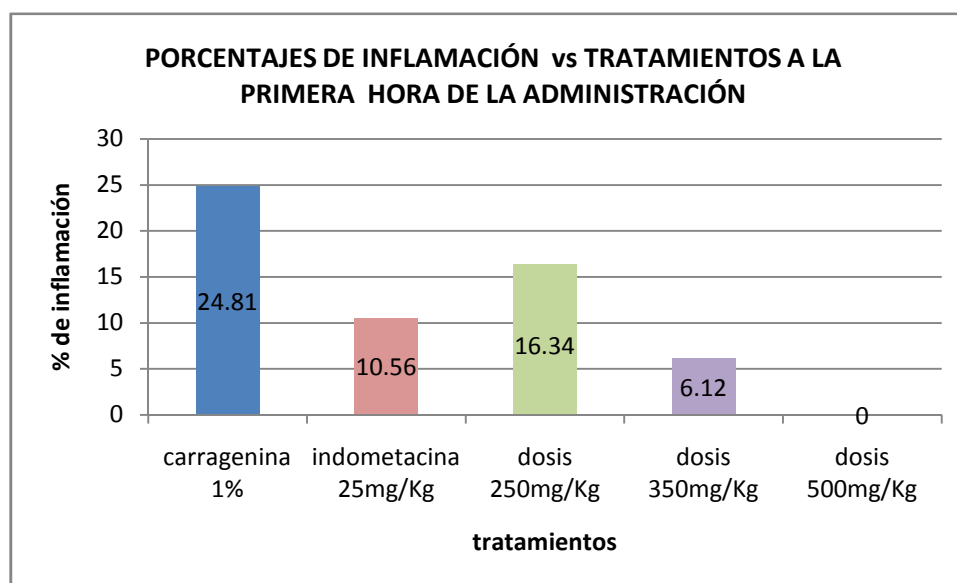
3.5.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los datos que se muestran a continuación se obtuvieron utilizando la fórmula de % de inflamación, descrita anteriormente en la metodología. Para elaborar las gráficas se utilizó el programa Microsoft office Excel 2007. En el tiempo 0 se administró el extracto, media hora después se inyectó la carragenina en el tiempo 1 y se continuó tomando las mediciones cada hora. Se realizaron gráficas que corresponden a cada uno de los grupos tratados.

Además en las siguientes tablas se presentan los resultados obtenidos al analizar estadísticamente los datos, para esto se utilizó el programa GSTAT Student en el cual se realizó un análisis de varianza ANOVA y la prueba del LSD al 95% para comparaciones múltiples entre los extractos y los controles.

En este trabajo también se anexó graficas que corresponden a las del grupo control y de la aplicación de una dosis prolongada del extracto de mayor concentración, para poder observar cómo se presenta el efecto antiinflamatorio.

GRÁFICO No. 1. PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN DE CADA TRATAMIENTO A LA PRIMERA HORA DE ADMINISTRACIÓN



CUADRO No. 7 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA CADA TRATAMIENTO A LA PRIMERA HORA DE ADMINISTRACIÓN

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Entre grupos	362.6379	4	90.6595	0.0000	0.0001
Dentro grupos	0.0000	0	0.0000		
Total (corr.)	362.6379	4			

CUADRO No. 8 PRUEBA DE LSD AL 95% PARA CADA TRATAMIENTO A LA PRIMERA HORA DE ADMINISTRACIÓN

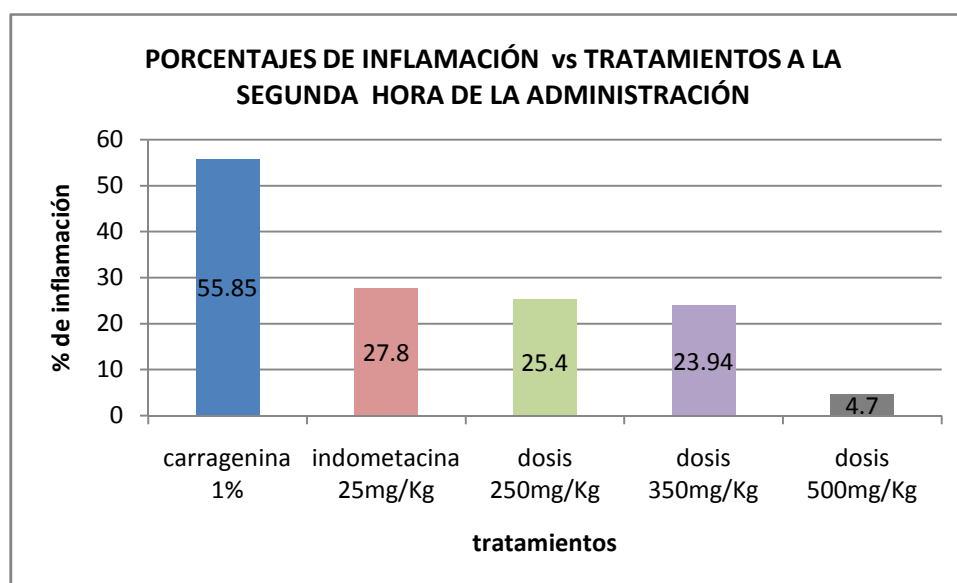
Contraste	Diferencia	+/- limite
T1VS T2	*14.2500	*0.0000
T1VST3	*8.4700	*0.0000
T1VST4	*18.6900	*0.0000
T1VST5	*24.8100	*0.0000
T2VST3	*-5.7800	*0.0000
T2VST4	*4.4400	*0.0000
T2VST5	*10.5600	*0.0000
T3VST4	*10.2200	*0.0000
T3VST5	*16.3400	*0.0000
T4VST5	*6.1200	*0.0000

*diferencia estadísticamente significativa

Análisis de resultados: A la primera hora de administración, se obtuvo un valor en el grupo tratado con la carragenina de un 24.81% y el valor en el grupo tratado con el extracto de mayor concentración (dosis equivalente de 500mg/Kg) fue de 0% de acuerdo al cálculo del volumen de inflamación.

Los extractos etanólicos de la verdolaga están sobrepasando al grupo control negativo carragenina, en particular los extractos más concentrados a las dosis de 350mg/Kg y 500mg/Kg, tienen mayor eficiencia y son superiores al fármaco de referencia indometacina, por tanto dichos extractos ejercen un mejor efecto antiinflamatorio.

GRÁFICO No. 2. PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN PARA CADA TRATAMIENTO A LA SEGUNDA HORA DE ADMINISTRACIÓN



CUADRO No. 9 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA CADA TRATAMIENTO A LA SEGUNDA HORA DE ADMINISTRACIÓN

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Entre grupos	1340.7289	4	335.1822	0.0000	0.0001
Dentro grupos	0.0000	0	0.0000		
Total(corr.)	1340.7289	4			

CUADRO No. 10 PRUEBA DE LSD AL 95% PARA CADA TRATAMIENTO A LA SEGUNDA HORA DE ADMINISTRACIÓN

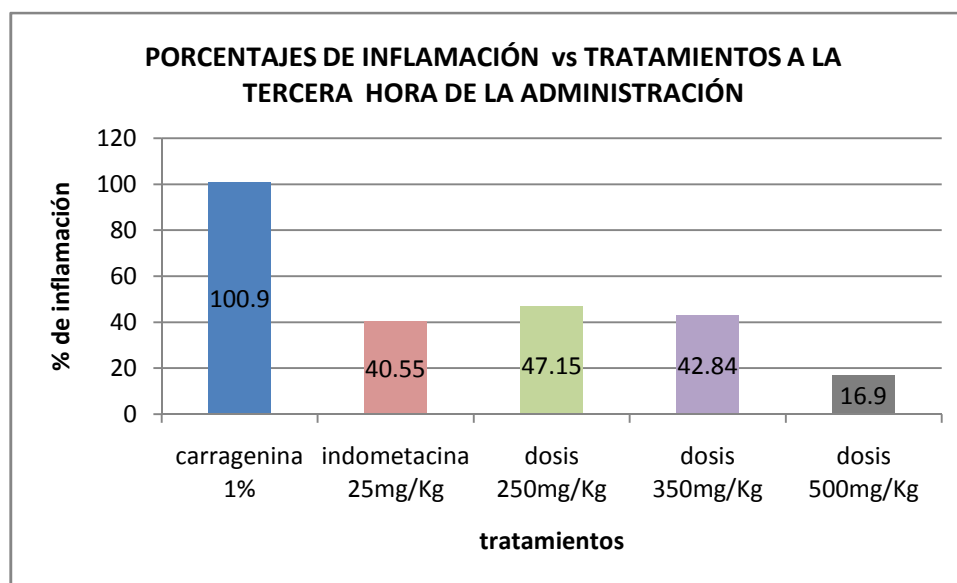
Contraste	Diferencia	+/- limite
T1VS T2	*28.0500	*0.0000
T1VST3	*30.4500	*0.0000
T1VST4	*31.9100	*0.0000
T1VST5	*51.1500	*0.0000
T2VST3	*2.4000	*0.0000
T2VST4	*3.8600	*0.0000
T2VST5	*23.1000	*0.0000
T3VST4	*1.4600	*0.0000
T3VST5	*20.7000	*0.0000
T4VST5	*19.2400	*0.0000

*diferencia estadísticamente significativa

Análisis de resultados: Al paso del tiempo hubo un mayor porcentaje de inflamación en los grupos tratados con los extractos, pero siguieron manteniendo su efectividad inicial ya que presentan una mayor actividad antiinflamatoria que el fármaco de referencia indometacina.

La diferencia fue más evidente en el extracto de mayor concentración ya que el porcentaje de inflamación es de apenas un 4.7% frente a la indometacina que presentó un 27.8% de inflamación.

GRÁFICO No. 3. PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN PARA CADA TRATAMIENTO A LA TERCERA HORA DE ADMINISTRACIÓN



CUADRO No. 11 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA CADA TRATAMIENTO A LA TERCERA HORA DE ADMINISTRACIÓN

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Entre grupos	3834.5595	4	958.6399	0.0000	0.0001
Dentro grupos	0.0000	0	0.0000		
Total(corr.)	3834.5595	4			

CUADRO No. 12 PRUEBA DE LSD AL 95% PARA CADA TRATAMIENTO A LA TERCERA HORA DE ADMINISTRACIÓN

Contraste	Diferencia	+/- limite
T1VS T2	*60.3500	*0.0000
T1VST3	*53.7500	*0.0000
T1VST4	*58.0600	*0.0000
T1VST5	*84.0000	*0.0000
T2VST3	*-6.6000	*0.0000
T2VST4	*-2.2900	*0.0000
T2VST5	*23.6500	*0.0000
T3VST4	*4.3100	*0.0000
T3VST5	*50.2500	*0.0000
T4VST5	*19.2400	*0.0000

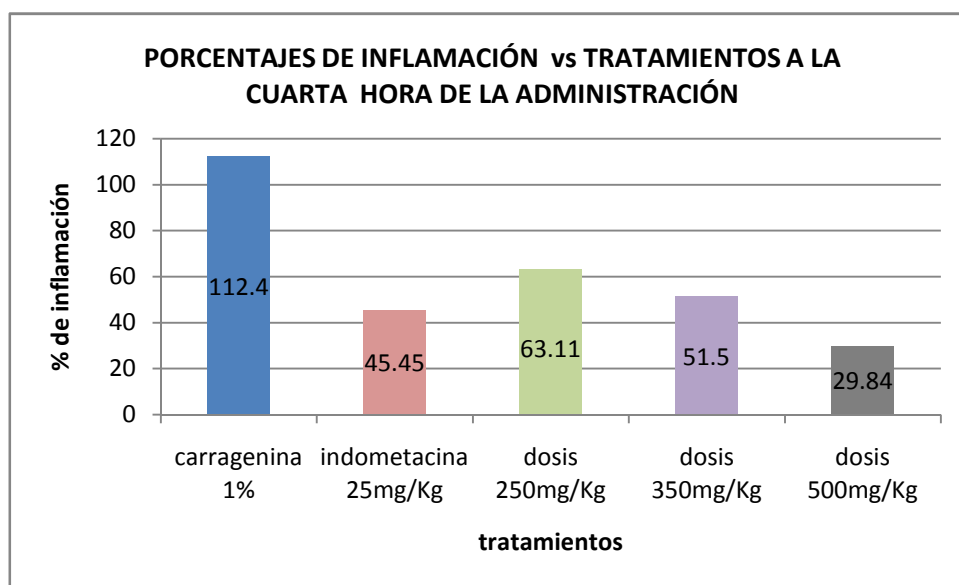
*diferencia estadísticamente significativa

Análisis de resultados: Como se observó en la gráfica anterior los porcentajes de inflamación del grupo tratado con carragenina aumentaron con relación a los de la primera y segunda hora de administración.

A mayor porcentaje de inflamación, los extractos ejercieron una mejor actividad antiinflamatoria, por lo tanto, mientras mayor sea la inflamación mejor efecto realizan los extractos.

El extracto a mayor concentración presentó un porcentaje de inflamación de 16.9%, por lo tanto, siguió manteniendo un mejor efecto que la indometacina ya que esta mostró un porcentaje de inflamación superior del 40.55%.

GRÁFICO No. 4. PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN PARA CADA TRATAMIENTO A LA CUARTA HORA DE ADMINISTRACIÓN



CUADRO No. 13 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA CADA TRATAMIENTO A LA CUARTA HORA DE ADMINISTRACIÓN

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Entre grupos	3947.9522	4	986.9881	0.0000	0.0001
Dentro grupos	0.0000	0	0.0000		
Total(corr.)	3947.9522	4			

CUADRO No. 14 PRUEBA DE LSD AL 95% PARA CADA TRATAMIENTO A LA CUARTA HORA DE ADMINISTRACIÓN

Contraste	Diferencia	+/- limite
T1VS T2	*66.9500	*0.0000
T1VST3	*49.2900	*0.0000
T1VST4	*60.9000	*0.0000
T1VST5	*82.5600	*0.0000
T2VST3	*-17.6600	*0.0000
T2VST4	*-6.0500	*0.0000
T2VST5	*15.6100	*0.0000
T3VST4	*11.6100	*0.0000
T3VST5	*33.2700	*0.0000
T4VST5	*21.6600	*0.0000

*diferencia estadísticamente significativa

Análisis de resultados: En esta fase se observó una respuesta vascular mayor, en el grupo control carragenina se pudo apreciar todos los signos de inflamación.

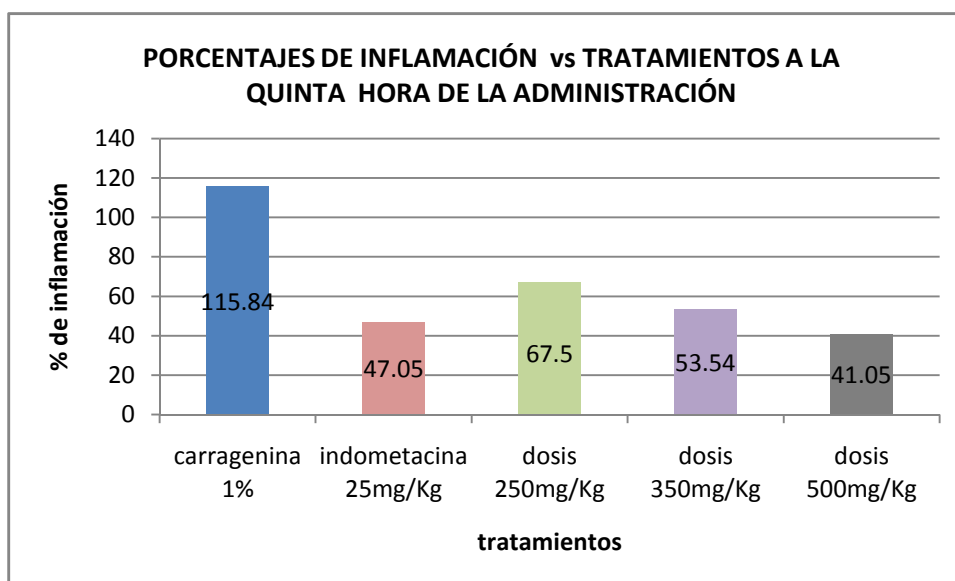
Se observó que la formación del edema fue diferente en los grupos tratados con el extracto y en los que fueron tratados con la indometacina, debido a que se diferenciaron en su largo y su diámetro.

El largo de la pata fue mayor con la indometacina y el diámetro fue menor. Lo contrario sucedió con el extracto ya que el largo se redujo mientras que el diámetro aumento. Esto beneficio para el cálculo del volumen de inflamación.

Se observó en la grafica a un tiempo 4, que el extracto a la dosis de 500mg/Kg presentó un porcentaje de inflamación de 29.84% por ende mantuvo una mejor actividad que el grupo control positivo indometacina que presento un 45.45% de inflamación.

El extracto a la dosis de 250mg/Kg no presentó una marcada actividad antiinflamatoria con relación al fármaco de referencia indometacina; esto pudo ser debido a que este grupo es el que presentó menor concentración de los metabolitos o talvés porque su absorción fue muy lenta o su excreción muy rápida, lo que dio como resultado una menor actividad antiinflamatoria.

GRÁFICO No. 5. PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN PARA CADA TRATAMIENTO A LA QUINTA HORA DE ADMINISTRACIÓN



CUADRO No. 15 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA CADA TRATAMIENTO A LA QUINTA HORA DE ADMINISTRACIÓN

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Entre grupos	3402.1785	4	850.5446	0.0000	0.0001
Dentro grupos	0.0000	0	0.0000		
Total(corr.)	3402.1785	4			

CUADRO No. 16 PRUEBA DE LSD AL 95% PARA CADA TRATAMIENTO A LA QUINTA HORA DE ADMINISTRACIÓN

Contraste	Diferencia	+/- limite
T1VS T2	*66.6300	*0.0000
T1VST3	*46.1800	*0.0000
T1VST4	*60.1400	*0.0000
T1VST5	*72.6300	*0.0000
T2VST3	*-20.4500	*0.0000
T2VST4	*-6.4900	*0.0000
T2VST5	*6.0000	*0.0000
T3VST4	*13.9600	*0.0000
T3VST5	*26.4500	*0.0000
T4VST5	*12.4900	*0.0000

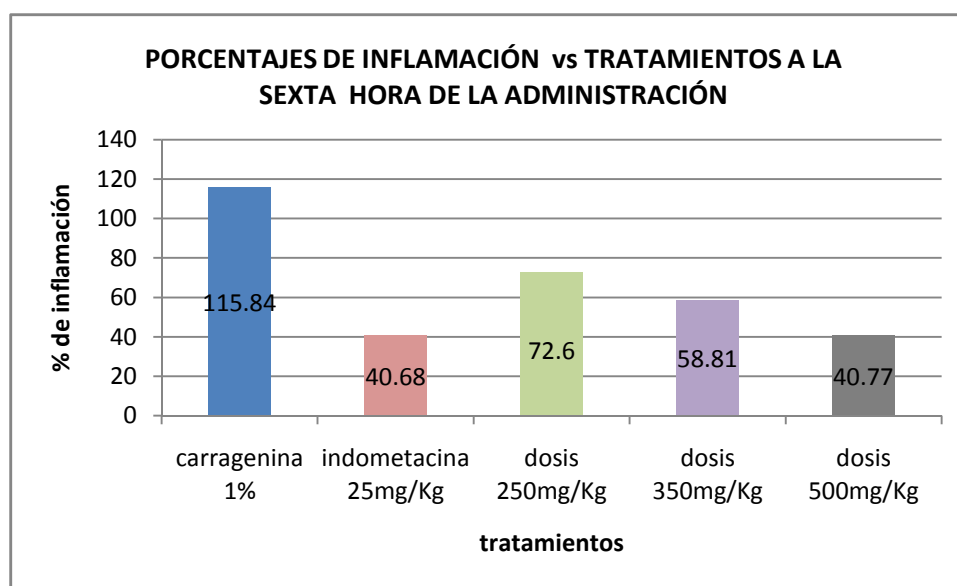
*diferencia estadísticamente significativa

Análisis de resultados: En este tiempo, como se observó en la grafica hay una tendencia similar que a la cuarta hora.

Los porcentajes de inflamación se van acercando entre el extracto de mayor concentración (dosis equivalente de 500mg/Kg) y el fármaco de referencia, se mantuvo el efecto ya que el extracto de mayor concentración tiene un porcentaje de inflamación de 41.05% mientras que la indometacina presenta un 47.05%.

El extracto de menor concentración (dosis equivalente de 250mg/Kg), mantiene un bajo efecto antiinflamatorio con relación al fármaco de referencia indometacina.

GRÁFICO No. 6. PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN PARA CADA TRATAMIENTO A LA SEXTA HORA DE ADMINISTRACIÓN



CUADRO No. 17 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA CADA TRATAMIENTO A LA SEXTA HORA DE ADMINISTRACIÓN

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Entre grupos	3856.5990	4	964.1497	0.0000	0.0001
Dentro grupos	0.0000	0	0.0000		
Total(corr.)	3856.5990	4			

CUADRO No. 18 PRUEBA DE LSD AL 95% PARA CADA TRATAMIENTO A LA SEXTA HORA DE ADMINISTRACIÓN

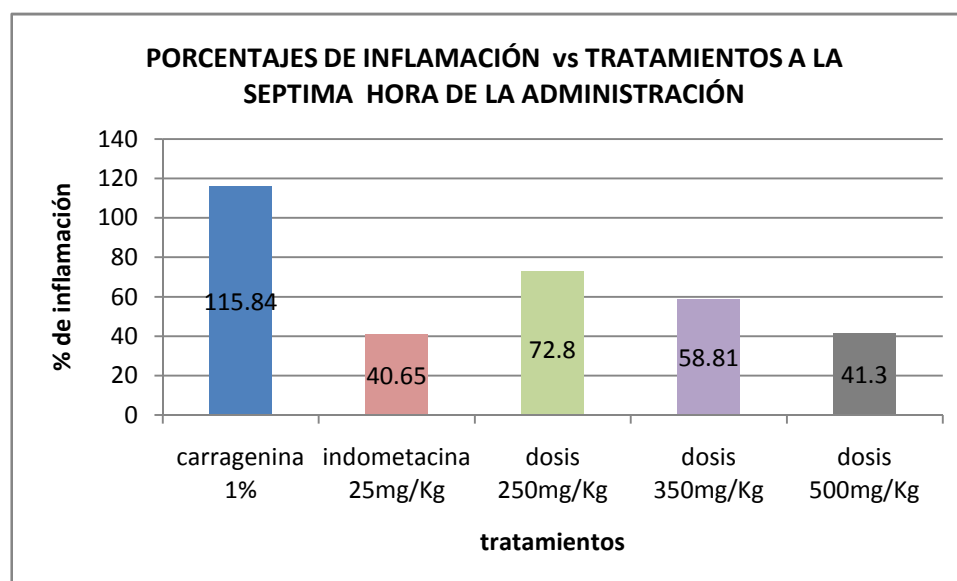
Contraste	Diferencia	+/- limite
T1VS T2	*75.1600	*0.0000
T1VST3	*43.2400	*0.0000
T1VST4	*57.0300	*0.0000
T1VST5	*75.0700	*0.0000
T2VST3	*-31.9200	*0.0000
T2VST4	*-18.1300	*0.0000
T2VST5	*-0.0900	*0.0000
T3VST4	*13.7900	*0.0000
T3VST5	*31.8300	*0.0000
T4VST5	*18.0400	*0.0000

*diferencia estadísticamente significativa

Análisis de resultados: Como se observó en el grafico a un tiempo 6, el grupo control positivo tratado con la indometacina presentó un 40.68% de inflamación y el grupo tratado con el extracto etanólico de mayor concentración presentó un 40.77% de inflamación, por lo tanto a esta hora, el extracto de mayor concentración (dosis de 500mg/Kg) ejerce una actividad antiinflamatoria similar a la indometacina.

En el grupo tratado con indometacina, el edema comenzó a bajar aproximadamente a las 6 horas de la inyección de carragenina. Esto no sucedió con el grupo al que se administró la dosis de 500mg/Kg, ya que a esa hora comienza a perder su efecto.

GRÁFICO No. 7. PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN PARA CADA TRATAMIENTO A LA SÉPTIMA HORA DE ADMINISTRACIÓN



CUADRO No. 19 ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBA DE LSD AL 95% PARA CADA TRATAMIENTO A LA SÉPTIMA DE ADMINISTRACIÓN

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Entre grupos	3834.6022	4	968.6506	0.0000	0.0001
Dentro grupos	0.0000	0	0.0000		
Total(corr.)	3834.6022	4			

CUADRO No. 20 ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBA DE LSD AL 95% PARA CADA TRATAMIENTO A LA SÉPTIMA DE ADMINISTRACIÓN

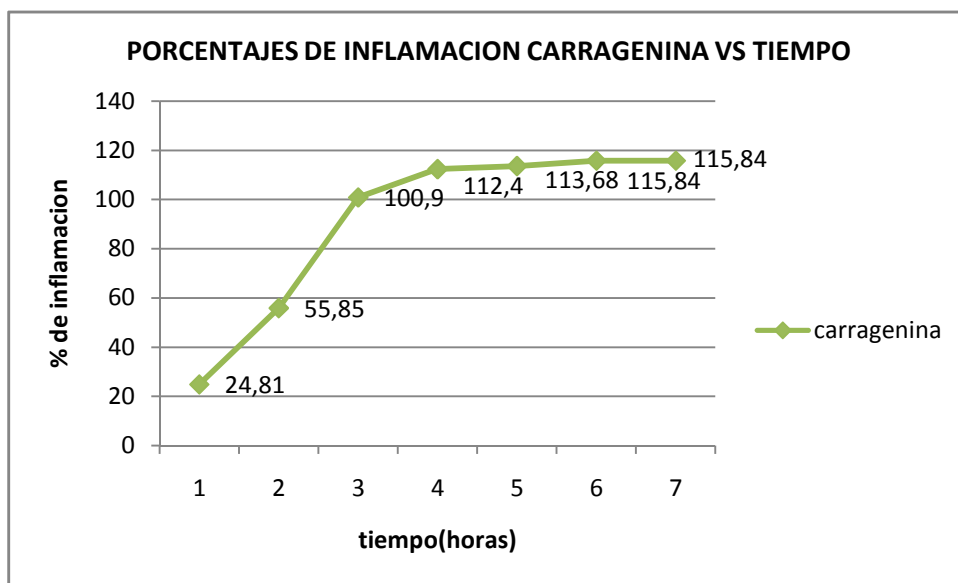
Contraste	Diferencia	+/- limite
T1VS T2	*75.1900	*0.0000
T1VST3	*43.0400	*0.0000
T1VST4	*57.0300	*0.0000
T1VST5	*74.5400	*0.0000
T2VST3	*-32.1500	*0.0000
T2VST4	*-18.1600	*0.0000
T2VST5	*-0.6500	*0.0000
T3VST4	*13.9900	*0.0000
T3VST5	*31.5000	*0.0000
T4VST5	*17.5100	*0.0000

*diferencia estadísticamente significativa

Análisis de resultados: Se observó que el extracto etanólico a mayor concentración (dosis equivalente de 500mg/Kg), exhibió un porcentaje de 41.3% y la indometacina 40.65% por ende se pudo apreciar un ligero aumento del porcentaje del mismo con respecto a la indometacina, lo que indica que el extracto disminuye su efecto a partir de un tiempo 7.

El extracto etanólico de menor concentración (dosis equivalente de 250mg/Kg), presentó poca actividad antiinflamatoria debido a que alcanzó un 72.8% de inflamación a las 7 horas, este valor fue alto si se compara con el 40.65% de inflamación que alcanzó el fármaco antiinflamatorio empleado que fue la indometacina.

GRÁFICO No. 8. PORCENTAJES DE INFLAMACIÓN DEL GRUPO CONTROL PARA CADA TIEMPO (HORAS)

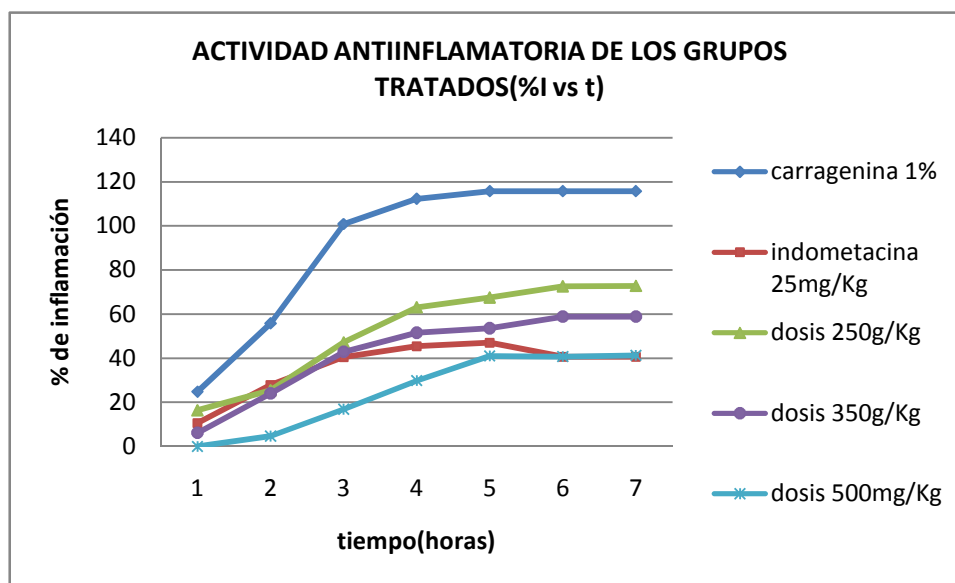


Análisis de resultados: El grupo control negativo recibió solamente carragenina, sin antiinflamatorio, por lo cual, sus porcentajes de inflamación son bastante elevados, a la segunda hora es de 55.85% y a la tercera hora aumentó significativamente al 100.9%, posteriormente también se incrementó pero de forma leve.

Ninguno de los grupos tratados supera al grupo control negativo, ya que sus valores fueron altos en relación a los demás grupos.

El edema sin la aplicación de un antiinflamatorio comenzó a bajar aproximadamente a las 24 horas de la inyección de carragenina.

GRÁFICO No. 9. ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE LOS GRUPOS TRATADOS PARA CADA TIEMPO (HORAS)



CUADRO No. 21 ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS GRUPOS TRATADOS CON RESPECTO AL TIEMPO

	Suma de cuadrados	G.L.	Cuadrado medio	F-valor	p-valor
Entre grupos	14000.6347	6	2333.4391	23.0198	0.0008E-5
Dentro grupos	18146.7738	4	4536.6934	44.7553	0.0009E-7
Residual	2432.8006	24	101.3667		
Total (corr.)	34580.2091	34			

CUADRO No. 22 PRUEBA DE LSD AL 95% DE LOS GRUPOS TRATADOS CON RESPECTO AL TIEMPO

Contraste	Diferencia	+/- limite
T1VS T2	*55.2257	*11.1072
T1VST3	*39.2029	*11.1072
T1VST4	*49.1114	*11.1072
T1VST5	*66.3943	*11.1072
T2VST3	*-16.0229	*11.1072
T2VST4	-6.1143	11.1072
T2VST5	*11.1686	*11.1072
T3VST4	9.9086	11.1072
T3VST5	*27.1914	*11.1072
T4VST5	*17.2829	*11.1072

*diferencia estadísticamente significativa

Análisis de resultados: Como se pudo observar en el gráfico, el extracto de mayor concentración (dosis equivalente de 500mg/Kg) es el que mostró una mayor actividad antiinflamatoria a las 1, 2, 3 ,4 y 5 h pos-administración de carragenina con respecto al fármaco de referencia que fue la indometacina ($p < 0.01$). Esto no ocurrió con los extractos de menor concentración.

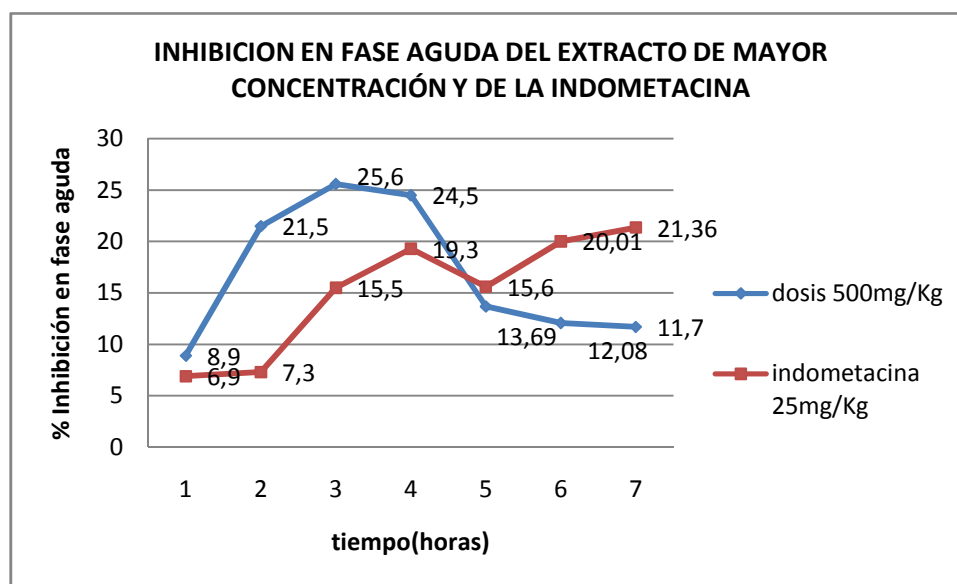
A partir del tiempo 5, se fue perdiendo dicha actividad ya que sufrió una ligera disminución, por lo que se supone que la velocidad de eliminación supero a la velocidad de absorción entre otras causas probables.

Con relación al grupo control carragenina, todos los extractos presentaron diferencia significativa, variando unicamente en su grado de concentración ya que, en ninguno de los casos, se rebaso a dicho grupo.

De acuerdo al grafico, de mayor a menor grado de actividad antiinflamatoria los resultados fueron los siguientes: dosis de 500g/Kg > dosis de 350mg/Kg > dosis de 250mg/Kg.

En los resultados que se obtuvieron en el análisis de ANOVA en valor de p nos dio menor de 0.01, esto significa que los resultados se consideran estadísticamente significativos y por tanto rechazaríamos la hipótesis nula de que todos los extractos son iguales y no presentan diferencias, al hacer esto corresponde a lo observado en las tablas y graficas, las cuales muestran que los extractos son diferentes al control.

GRÁFICO No. 10. PORCENTAJES DE INHIBICIÓN DE LA REACCIÓN INFLAMATORIA EN FASE AGUDA DEL EXTRACTO ETANOLICO DE MAYOR CONCENTRACIÓN Y DEL FÁRMACO DE REFERENCIA PARA CADA TIEMPO (HORAS)

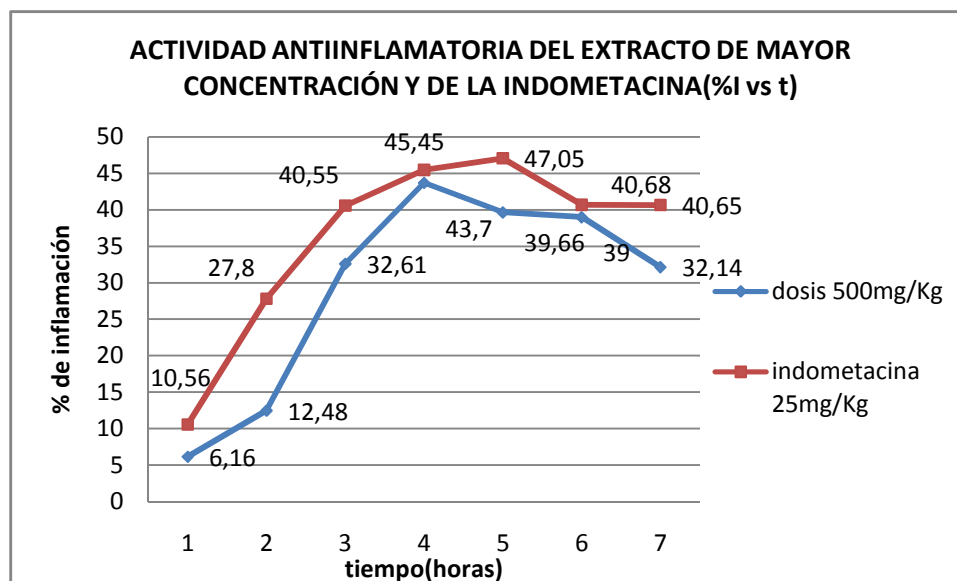


Análisis de resultados: Para obtener los porcentajes de inhibición en fase aguda se comparó al grupo problema (extracto de mayor concentración) con el grupo control (sin antiinflamatorio).

Los mayores porcentajes de inhibición del edema con el extracto etanólico de mayor concentración (dosis de 500mg/Kg) se observaron a las 2, 3 y 4 h, siendo más alto a las 3 h posteriores a la administración de carragenina.

Se pudo observar que la dosis de 500mg/Kg presentó un mayor porcentaje de de inhibición que la indometacina hasta el tiempo 4, a partir del tiempo 5 en adelante, va perdiendo su efecto antiinflamatorio inicial.

GRÁFICO No. 11. ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE MAYOR CONCENTRACIÓN CON RESPECTO AL FÁRMACO DE REFERENCIA PARA CADA TIEMPO (HORAS)



Análisis de resultados: Se administró una nueva dosis del extracto etanólico de mayor concentración, a 2 tiempos, a las cero horas y la cuarta hora.

A partir de la cuarta hora el extracto etanólico de mayor concentración presentó una elevación del porcentaje de inflamación hasta 43.7%, por lo cual se administró nuevamente la misma dosis inicial (500mg/Kg) del mismo y se observó una disminución del edema en las horas siguientes, lo cual comprobó su efectividad superior a la indometacina, pero para esto se requirió una nueva administración a diferencia de la indometacina que se administro una sola vez.

Cabe señalar adicionalmente que, los estómagos de los animales tratados con los extractos de la planta, no mostraron lesiones macroscópicas en la mucosa gástrica presentando un aspecto normal. Siendo esta una ventaja en su uso.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos en el control de calidad de la materia prima fresca como la determinación de humedad, cenizas totales, sustancias solubles e insolubles se encontraron dentro de los límites establecidos.
2. Mediante el tamizaje fitoquímico se demostró la presencia de compuestos químicos en la verdolaga (*Portulaca oleracea*), como alcaloides, catequinas, flavonoides, saponinas, taninos, aminoácidos, antocianidinas, azúcares reductores, compuestos grasos y mucílagos.
3. Se efectuó un control de calidad del extracto etanólico de la verdolaga (*Portulaca oleracea*), densidad relativa 0.957g/mL, índice de refracción 1.358, el pH de 5.79 y los sólidos totales 1.27%; los mismos se encontraron dentro de los valores referenciales para esta especie.
4. Se evaluó la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de la verdolaga a dosis de 250mg/Kg, 350mg/Kg y 500mg/Kg utilizando el modelo del edema plantar en la rata inducido por carragenina, se empleó indometacina como droga testigo. El extracto a la dosis de 500mg/Kg exhibió una actividad antiinflamatoria casi similar a la indometacina, mostrando un mayor efecto con respecto a las demás dosis. A mayor dosis mejoró el efecto antiinflamatorio.
5. Los resultados se analizaron por ANOVA y por la prueba del LSD al 95% y determinaron que la administración del extracto etanólico de la verdolaga a la dosis de 500mg/Kg presentó acción antiinflamatoria significativa ($p < 0,01$) con respecto a los grupos control y en mayor proporción que el resto de las dosis estudiadas ($p < 0,01$). En el grupo control negativo el volumen del edema comenzó a bajar a las 24 horas del inicio del experimento.

6. La planta presentada en este estudio tiene actividad antiinflamatoria a una dosis de 500g/Kg hasta las 5 horas, transcurrido este tiempo comenzó a perder su efecto por lo tanto requirió de una nueva administración a diferencia de la indometacina que a una dosis inferior (25mg/Kg) tuvo un efecto de mas prolongado, por lo tanto presenta una actividad inferior a este fármaco.

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. En el estudio realizado además de la actividad antiinflamatoria se pudo apreciar que la verdolaga presenta un efecto diurético, sería importante realizar un estudio acerca de esta actividad.
2. Se recomienda realizar un estudio de los diferentes metabolitos secundarios presentes en esta especie.
3. Efectuar estudios toxicológicos de la verdolaga para una mejor evaluación de la investigación.
4. Se recomienda elaborar un fitofármaco tratando de potenciar la actividad antiinflamatoria de la verdolaga.
5. Se recomienda continuar con el estudio de plantas medicinales en búsqueda de productos funcionales y efectivos.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue comprobar la actividad antiinflamatoria del extracto etanólico de hojas, tallos y semillas de verdolaga (*Portulaca oleracea*), aplicando diferentes dosis y tratamientos en ratas con la finalidad de encontrar los más adecuados para probar su efectividad, como una alternativa frente al uso de fármacos antiinflamatorios ya que existe una tendencia al uso de productos de naturales. El efecto antiinflamatorio se midió en 15 ratas albinas, a las que se les inyectó carragenina en la región plantar provocando inflamación, se las sometió a 5 tratamientos, siendo T1 un grupo control que recibió solo el vehículo agua destilada, T2 un grupo que recibió el antiinflamatorio indometacina y a los demás grupos se les aplicó los extractos por vía oral utilizando una cánula, recibiendo el T3 una cantidad de extracto de 250mg/Kg, el T4 una cantidad de 350mg/Kg y el T5 500mg/Kg, se midieron los volúmenes de inflamación desde las 0 horas hasta las 7 horas encontrándose una disminución en la velocidad de formación del edema. Se calcularon los porcentajes inflamación cada hora y se determinó que hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos tratados y los grupos control ($p < 0.01$). De acuerdo al efecto antiinflamatorio obtenido en forma creciente los resultados fueron los siguientes: T5>T4>T3. El extracto etanólico a dosis de 500g/Kg mostró una efectividad similar a la indometacina hasta las 5 horas, transcurrido este tiempo comenzó a perder su efecto por lo que requirió de una nueva administración a diferencia de la indometacina que se administró una sola vez, por lo tanto presenta una actividad inferior a este fármaco. Se recomienda realizar un estudio de metabolitos secundarios presentes en esta especie, tales como los alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos y catequinas.

SUMMARY

This work's goal was to compare the anti-inflammatory activity from the ethanolic extract of the purslane (*Portulaca oleracea*) leaves, stems and seeds. There were applied different dosages and treatments on rats with to find the most adequate to probe their effectiveness as an alternative to anti-inflammatory drugs because there is a trend to use natural products. The anti-inflammatory effect was measured on 15 albino rats which were injected with carrageenanin the foot area producing inflammation. They were undergone to 5 treatments, being T1 a control group that only had distilled water as a vehicle, T2 is a group that received the anti-inflammatory indomethacin, and the other groups were treated with the extracts orally using a cannula. T3 had an amount of the extract of 250mg/Kg, T4 an amount of 350mg/Kg, and T5 had 500mg/Kg. There were measured all the volumes of inflammation from twelve o'clock at midnight until seven o'clock in the morning. It was found a diminishing on the speed of an edema formation. There were calculated inflammation percentages every hour and it was determined that there was a significant statistic difference between the treated groups and the control groups ($p < 0,01$). According to the anti-inflammatory effect obtained in an increasing way for the results, they showed this: $T5 > T4 > T3$. The ethaonolic extract with dosages of 500mg/Kg showed an similar effectiveness to the indomethacin until 5 hours. Once that time gone by became to lose the effect, that's why it required a new administration. It is different from the indomethacin that was given once, as a result it showed an inferior activity to this drug. It is recommended to perform an study for secondary metabolites presented in this species, such as alkaloids, flavonoids, saponins, tannins and catechins.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **ARISTIL, P.** 2010. Farmacología básica y clínica. 5ta ed. México DF, Mc Graw Hill Interamericana. pp. 199-201
2. **ATLAS DE LAS PLANTAS DE LA MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA: *Portulaca oleracea***
<http://www.medizzine.com/plantas/verdolaga.php>
20090704
3. **BARRESE, Y., HERNANDEZ, M.** 2005. Caracterización y estudio fitoquímico de *Cassia alata*. Plant Med. Cuba. vol 10, pp. 2
4. **BELLANTI, J.** 1986. Inmunología. 3ra ed. México DF, Interamericana. pp. 231-240.
5. **BOERIS, M., TOSO, R.** 2003. Actividad antiinflamatoria de *Salpichroa originifolia*. Acta Farmacéutica Bonaerense. Puerto Rico. vol 23, pp. 138-41
6. **BORCHERS, A.** 2000. Inflammation and native american medicine: the role of de botanicals. The American Journal of Clinical Nutrition. vol 72, pp. 339-347

7. **BROUSSALIS, A.** 2004. Estudio farmacognóstico de una planta medicinal *Hybanthus parriflorus*. Tesis Doctorado en Bioquímica y Farmacia. Argentina. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Buenos Aires. pp. 150
8. **BRUNETON, J.** 2001. Farmacognosia: fitoquímica plantas medicinales. Inglaterra, Interapt. 1094p.
9. **BUCAI, L.** 2009. Estudio farmacognóstico y actividad antimicrobiana de la Violetilla (*Hybanthus parviflorus*). Tesis. Doctor en Bioquímica y Farmacia. Riobamba. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. pp. 33-46
10. **CARRANZA, R.** 2009. Guía de farmacología y terapéutica. 2da ed. México DF, Mc Graw Hill Interamericana. pp. 43-47
11. **CHAPEL, H.** 1992. Inmunología clínica. 2da ed. El Manual Moderno S.A de C.V. pp. 31-37.
12. **CONTERO, F.** 2007. Screening y estudio fitoquímico de los extractos blandos de *Arcytophyllum thymifolium* y *Monnina obtusifolia*. Tesis. Bioquímico Farmacéutico. Riobamba. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. pp. 33-46
13. **CRAGG, M.** 1997. Natural products in drug discovery and development. Journal of Natural Products. pp. 52-60
14. **CUADRADO, L.** 2004. Estudio bromatológico y fitoquímico de la Jícama (*Smallanthus sanchifolia*) para determinar el tiempo óptimo de cosecha. Tesis. Doctora en Bioquímica y Farmacia. Riobamba. Facultad de Ciencias. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. pp. 36-40

15. **CYTED.** 1995. Programa iberoamericano de ciencias y tecnología para el desarrollo: manual de técnicas de investigación. Guatemala. pp. 80-83
16. **DA SILVA, J.** 1992. Actividades antiinflamatoria, analgésica y antipirética de flavonoides aislados de plantas brasileras. Tesis de Masterado presentada a la Escuela Paulista de Medicina. Sao Paulo. Universidad Federal de Sao Paulo. pp 18-35
17. **DOMINGUEZ, X.** 1973. Métodos de investigación fitoquímica. México DF, Limusa. 259p.
18. **EL PROCESO INFLAMATORIO**
<http://www.uclm.es/ab/enfermeria/revista/numero%204/pinflamatorio4.htm>
20091012
19. **ESPINOZA Y.** Determinación de la actividad anti-inflamatoria de los extractos etanólicos, hexánicos y acuosos de las plantas medicinales: *Bursela aloexylon*, *Amphipterygium adstringens*, *Tila mexicana*, *Verbascum thapsus*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia hispanica*, *Aloe Vera* y *Opuntia ficus-indica* en un modelo animal. Tesis. Biomedicina clínica. Puebla. Universidad de las Américas. Varias p.
20. **EXPERIMENTACIÓN EN ANIMALES**
http://www.archivos.ujat.mx/dacbiol/docencia/lineamientos/manejo_animales.pdf
20091214
21. **FARMACOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS**
<http://www.monografias.com/trabajos65/aines/aines2.shtml>
20100306

22. **FIGUEROA, Y.** 1999. Glosario farmacológico. 2da ed. México DF, Noriega. pp. 56,79,312.
23. **GILG, E.** 1932. Farmacognosia. Barcelona, Labor S.A. pp. 2-4.
24. **GIRAL, F. 1942.** Preparación de productos químicos y químico-farmacéuticos. 2da ed. México DF, Atlante. pp. 838-859
25. **GONZALES, E.** Evaluación de la actividad antiinflamatoria de ocho especies del genero *Baccharis*: *B. articulata*, *B. dracunculifolia*, *B. salicifolia*, *B. ulcina*, *B. latifolia*, *B. pentlandii*, *B. obtusifolia*, *B. subalata*. Área de Farmacología del Instituto de Investigaciones Farmaco-Bioquímicas, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, Universidad Mayor de San Andrés. Revista Boliviana de Química. La Paz. vol. 24
26. **GOODMAN, GILMAN.** 2003. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 10ma ed. México DF, Mc Graw Hill. pp. 125
27. **HERNÁNDEZ, J.** 1987. Plantas medicinales de uso popular en Santiago de Cuba. Archivo Personal.
28. **HOLMAN, R.** 1965. Botánica general. México DF, Hispano Americana. pp. 134
29. **KATZUNG, B.** 1991. Farmacología básica y clínica. 4ta ed. México DF, El Manual moderno S.A. de C.V. pp. 488,489
30. **KRINKE, G.** 2000. The handbook of experimental animals: the laboratory rat. New York, Academic Press. 598p
31. **LOCK, O.** 1988. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. Lima, Pontificia Universidad Católica. 213p.

32. **LULLMANN, H.** 2008. Color atlas of pharmacology. 3a ed. s.l. Thieme. pp. 194-199
33. **MECANISMOS GENERALES DE DEFENSA: ASPECTOS INMUNES DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA**
http://www.uco.es/grupos/inmunologia-molecular/texto_pdf/tema_25.pdf
20090506
34. **MEDICINA TRADICIONAL MEXICANA: *Portulaca oleracea***
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=&id=7511>
20070727
35. **OBTENCIÓN DE EXTRACTOS A PARTIR DE PLANTAS MEDICINALES**
www.monografias.com/usuario/perfiles/tania_perez_bueno
20080625
36. **PALAU X., GÓMEZ, J.** 1995. Atlas de botánica. Madrid, Cultural. pp. 90-91
37. **PORTULACA EXTRACT**
www.lipoquimia.com.mx
20110616
38. **REMYNTON.** 2003. Farmacia de Remington. 24va ed. Buenos Aires, Panamericana. pp. 1893-1895.
39. **ROSENSTEIN, E.** 1998. Diccionario de especialidades farmacéuticas. 40va ed. Ediciones PLM, S.A DE C.V. pp. 1088-1090.
40. **SAMANIEGO, E.** 2005. Fundamentos de farmacología medica. 6ta ed. Quito, Casa de la Cultura Ecuatoriana. pp. 427-443

41. **SARAVIA, A.** 2005. Manual de ensayos toxicológicos y farmacológicos experimentales in vivo e in vitro. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. pp. 422-433
42. **STITES, D., ABBA, T.** 1993. Inmunología básica y clínica. 7ma ed. El Manual Moderno, S.A.de C.V. pp. 43, 155, 167, 185,186.
43. **STRYER, L.** 1985. Bioquímica. España, Reverte.460p.
44. **SOCIEDAD CUBANA DE FARMACOLOGIA.** 2001. Taller nacional sobre inflamación: memorias. Escuela Latinoamericana de Medicina. ISBN. 956p.
45. **SOTO, M.** 1940. Farmacología y terapéutica. Buenos Aires, El Ateneo. pp. 526
46. **TAMIZAJE FITOQUIMICO**
http://www.dfarmacia.com/farma/ctl_servlet?_f=13&idContenido=13083626&idCategoria=520090817
47. **TREASE, G.** 1986. Tratado de farmacognosia. 12va ed. Interamericana. pp. 3, 4,71.
48. **USO INDUSTRIAL DEL PLANTAS AROMATICAS Y MEDICINALES**
<http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales/contenidos/material-de-clase/tema12.pdf>
20010818

49. **VINUEZA, D.** Determinación de la actividad gastroprotectora de fos de jícama (*Smallanthus sonchifolia*) en ratas con lesiones gástricas inducidas. Tesis. Bioquímico Farmacéutico. Riobamba. Facultad de Ciencias. Escuela de Bioquímica y Farmacia. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. pp. 26-29

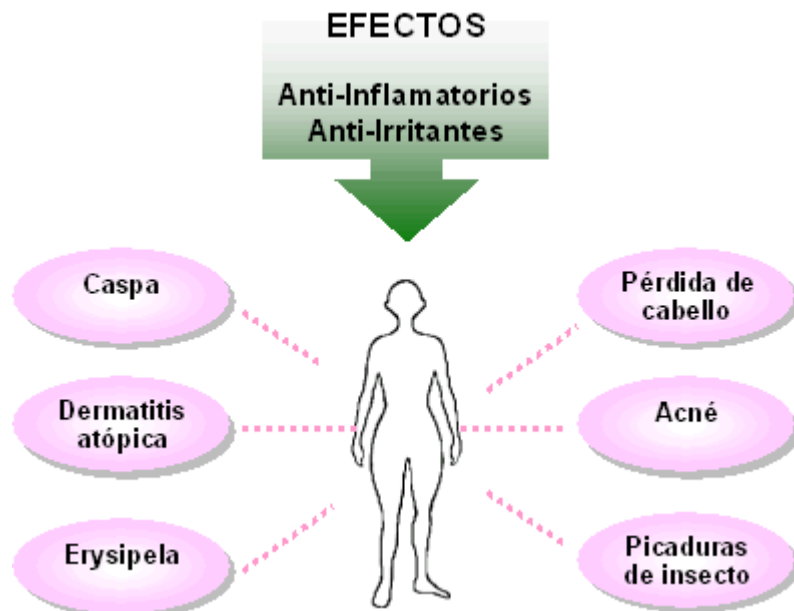
50. **WEIR, D.** 1999. Inmunología. 3ra ed. El manual moderno. pp. 32,33.

51. **YARA, E., SUESCUN, F.** 2007. Tamizaje fitoquímico y actividad antioxidante de extractos acuoso y orgánicos de *Justicia pectoralis*. Scientia Et Technica. Colombia. vol 13, pp. 349-350.

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO No. 1. ACTIVIDAD BIOLÓGICA DEL EXTRACTO DE VERDOLAGA (*Portulaca oleracea*)



ANEXO No. 2. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES Y REACTIVOS UTILIZADOS EN EL TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Reactivo de Baljet: Solución A: 1g de ácido pícrico (2, 4,5-trinitrofenol) en 100mL de etanol.

Solución B: 10g de NaOH en 100mL de agua.

Solución de carbonato de sodio: 12.5g de carbonato de sodio se disuelven en agua destilada.

Solución reactiva de Dragendorff: Mezclar 21.3 mL de ácido nítrico ($d=1.42$) con suficiente agua destilada para hacer 62mL. En 20mL de esta solución se disuelven 5 g de subnitrito de bismuto. Por separado, se disuelven 31.2 g de yoduro de potasio en 69mL de agua. Mezclar luego ambas soluciones.

Dragendorff modificado: Solución A: 17 g de subnitrito de bismuto; 200g de ácido tartárico, en 800mL de agua. **Solución B:** 160 g de yoduro de potasio en 400 mL de agua.

Solución reactiva de Lieberman: 1 mL de ácido sulfúrico concentrado se mezclan con 20 mL de anhídrido acético y 50 mL de cloroformo.

Solución reactiva de Mayer: 1.258 g de cloruro de mercurio se disuelven en 60 mL de agua. Por otra parte se disuelven 5 g de yoduro de potasio en 20 mL de agua, se mezclan ambas soluciones y se enrasa a 100 mL con agua.

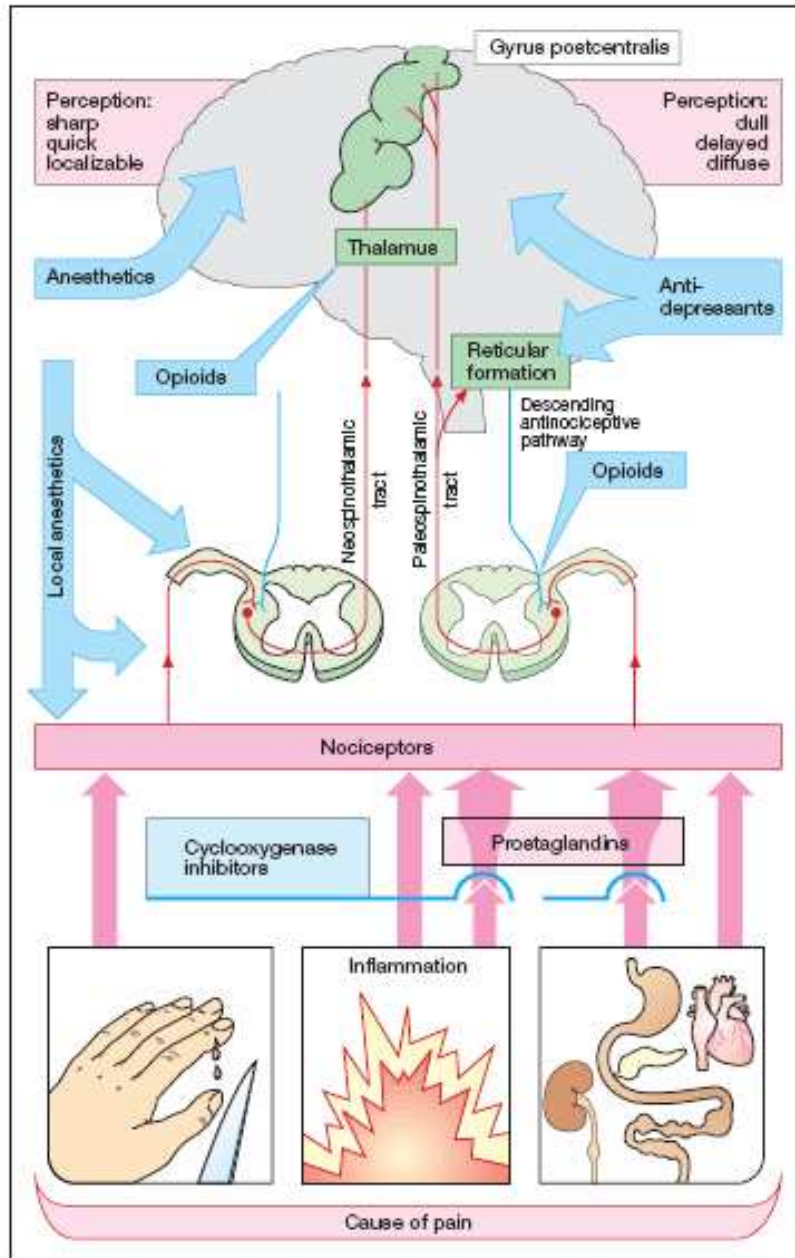
Solución reactiva de Fehling: Solución A: 7 g de sulfato de cobre se disuelven en 100 mL de agua destilada, conteniendo 0.1 mL de ácido sulfúrico. **Solución B:** 35 g de tartrato de sodio y potasio y 15.5 g de NaOH disueltos en 100 mL de agua. Se mezclan partes iguales de A y B, en el momento de usarse.

Solución de gelatina: 1% de gelatina en agua. Si se desea prepararle en glicerina, se utiliza la misma al 50%, con un 1 % de fenol como conservador

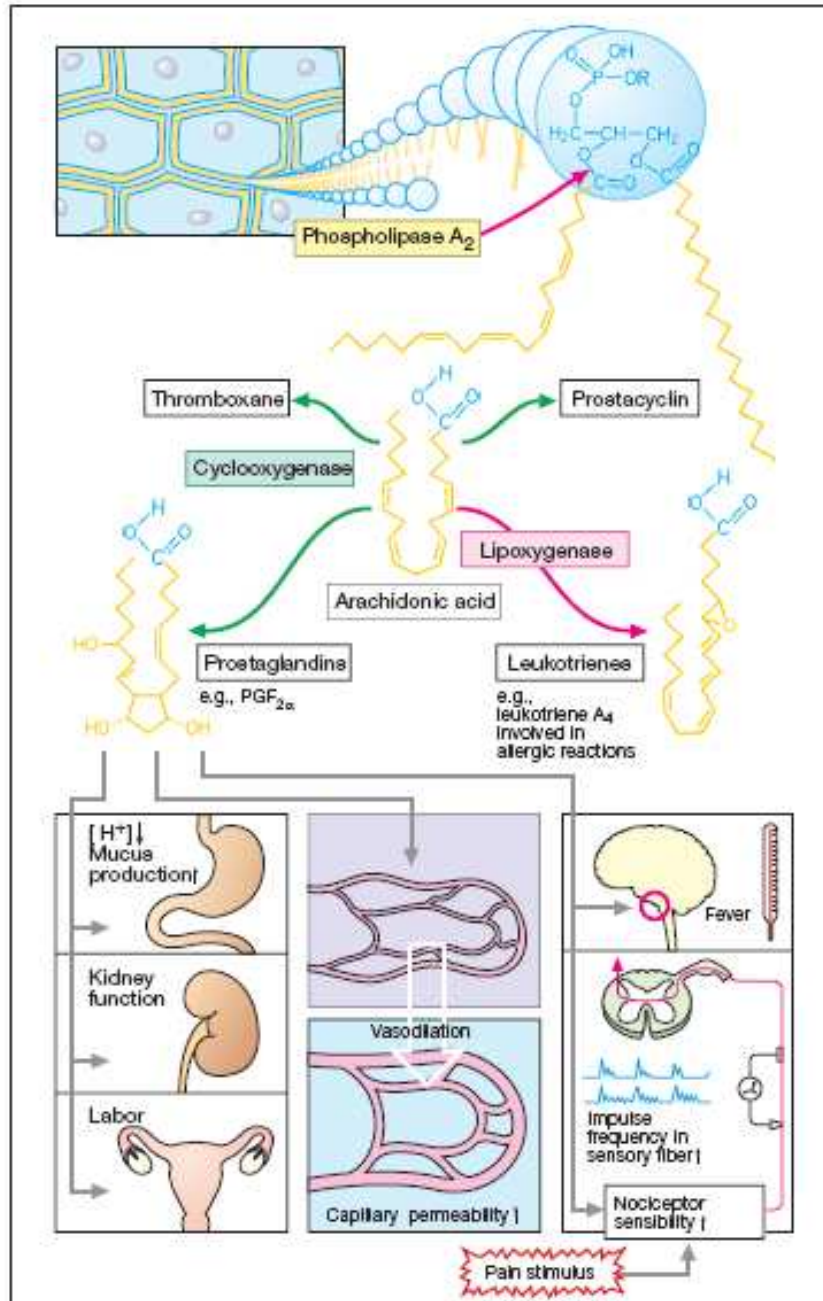
Solución reactiva de Kedde: Ácido 3,5-dinitrobenzoico al 2 % en metanol. KOH al 5.7 % en agua

Solución reactiva de Sudan III: solución al 6 % en partes iguales de alcohol y glicerina.

Solución reactiva de Wagner: se disuelven 2 g de yodo y 2 g de yoduro de potasio en un pequeño volumen de agua, y luego llevando el enrase a 100 mL, con agua.

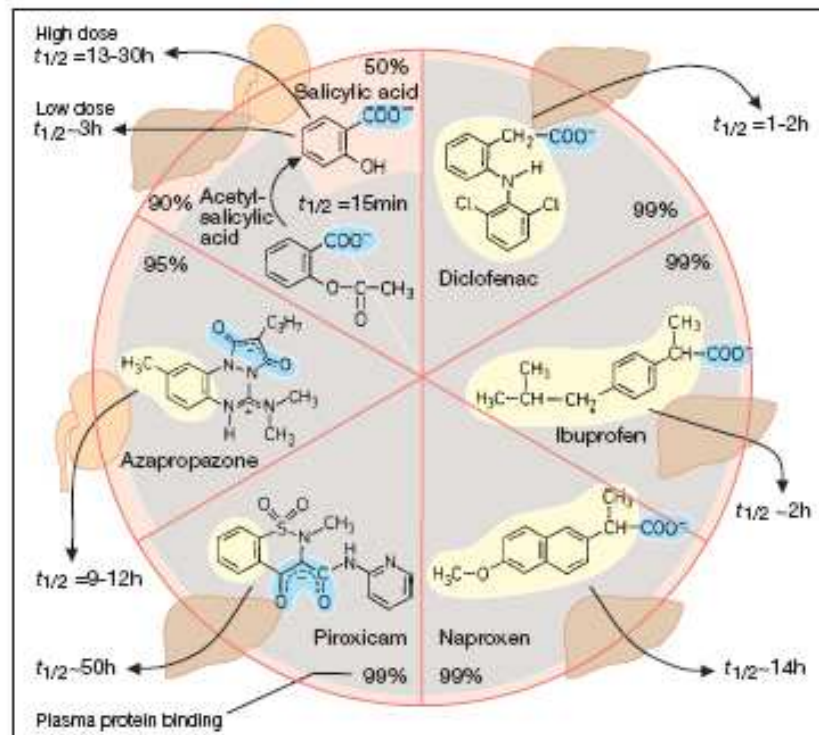


A. Pain mechanisms and pathways

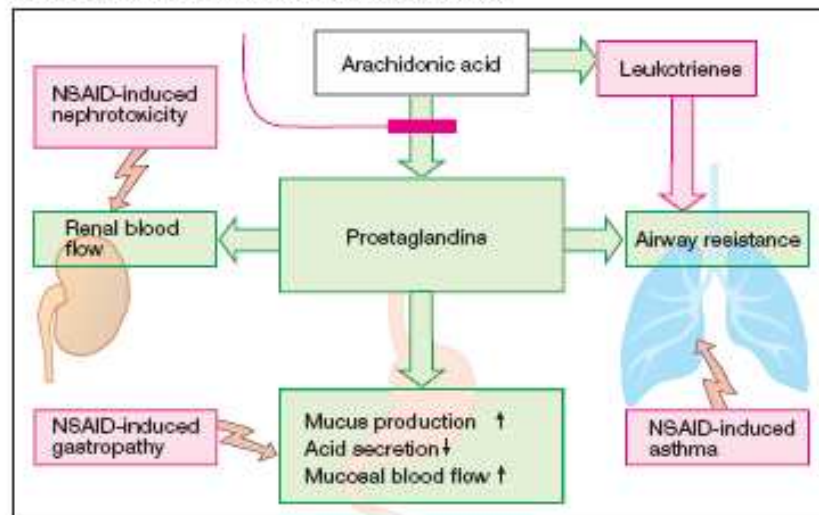


A. Origin and effects of prostaglandins

ANEXO No. 5. ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDEOS EFECTOS ADVERSOS



A. Nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs)



B. NSAIDs: group-specific adverse effects

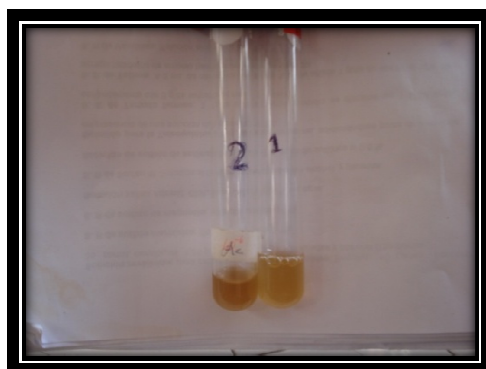
ANEXO No. 6. PARTES DE LA PLANTA DE VERDOLAGA (*Portulaca oleracea*)



ANEXO No. 7. TAMIZAJE FITOQUÍMICO



FOTOGRAFÍA No. 1 PROCESO DE OBTENCIÓN DE EXTRACTOS



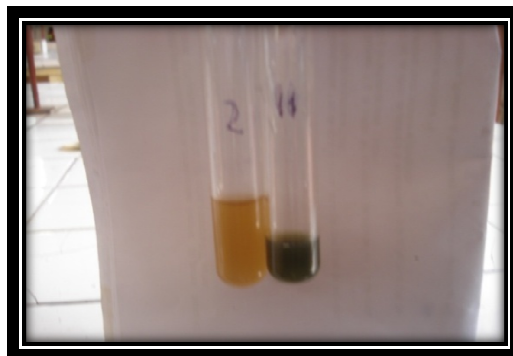
FOTOGRAFÍA No. 2 DETERMINACIÓN DE ALCALOIDES ENSAYO DE DRAGENDORFF



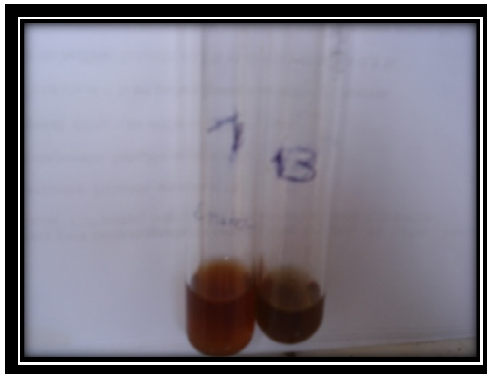
FOTOGRAFIA No. 3 DETERMINACIÓN DE ALCALOIDES ENSAYO DE WAGNER



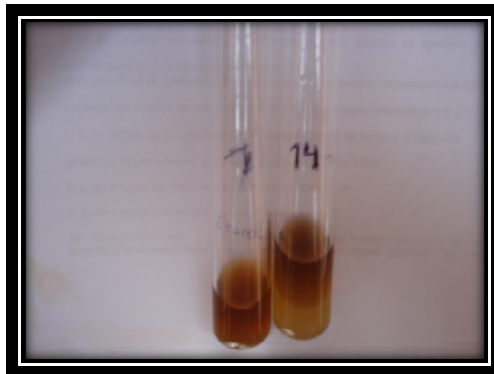
FOTOGRAFIA No. 4 DETERMINACIÓN DE ALCALOIDES ENSAYO DE MAYER



FOTOGRAFIA No. 5 DETERMINACIÓN DE TANINOS



FOTOGRAFIA No. 6 DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES



FOTOGRAFIA No. 7 ENSAYO DE ANTOCIANIDINAS



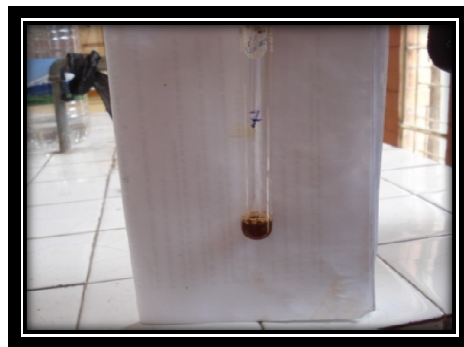
FOTOGRAFIA No. 8 DETERMINACIÓN DE AMINOÁCIDOS



FOTOGRAFIA No. 9 DETERMINACIÓN DE CATEQUINAS



FOTOGRAFIA No. 10 DETERMINACIÓN DE AZUCARES REDUCTORES



FOTOGRAFIA No. 11 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS GRASOS



FOTOGRAFIA No. 12 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

ANEXO No. 8. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA



FOTOGRAFIA No. 13 FORMACION DEL EDEMA PLANTAR EN RATA



FOTOGRAFIA No. 14 ADMINISTRACION DE EXTRACTOS POR VIA ORAL



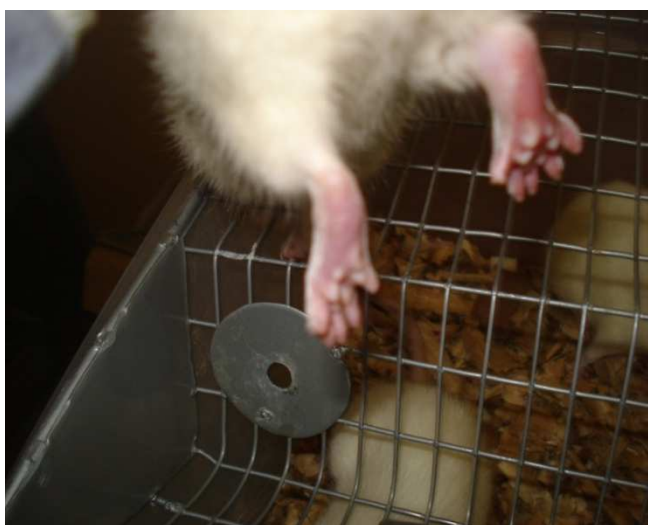
FOTOGRAFIA No. 15 ACCIÓN DEL ANTIINFLAMATORIO



FOTOGRAFIA No. 16 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DOSIS 500mg/Kg



FOTOGRAFIA No. 17 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DOSIS 350mg/Kg



FOTOGRAFIA No. 18 ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DOSIS 250mg/Kg